

Utjecaj načina mužnje na zdravlje mliječne žlijezde paške ovce

Blažanović, Mislav

Master's thesis / Diplomski rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:204:395606>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-06-29**



Repository / Repozitorij:

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

UTJECAJ NAČINA MUŽNJE NA ZDRAVLJE
MLIJEČNE ŽLIJEZDE PAŠKE OVCE

DIPLOMSKI RAD

Mislav Blažanović

Zagreb, srpanj, 2018.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

Diplomski studij:
Proizvodnja i prerada mlijeka

UTJECAJ NAČINA MUŽNJE NA ZDRAVLJE
MLIJEČNE ŽLIJEZDE PAŠKE OVCE

DIPLOMSKI RAD

Mislav Blažanović

Mentor: izv. prof. dr. sc. Antun Kostelić

Zagreb, srpanj, 2018.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZJAVA STUDENTA
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, Mislav Blažanović, JMBAG 0178091605, rođen/a 25.11.1993. u Zagrebu, izjavljujem da sam samostalno izradio diplomski rad pod naslovom:

UTJECAJ NAČINA MUŽNJE NA ZDRAVLJE MLIJEČNE ŽLIJEZDE PAŠKE OVCE

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedini autor ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____

Potpis studenta

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZVJEŠĆE
O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studenta/ice Mislav Blažanović, JMBAG 0178091605, naslova
UTJECAJ NAČINA MUŽNJE NA ZDRAVLJE MLIJEČNE ŽLIJEZDE PAŠKE OVCE

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____, dana _____.

Povjerenstvo:

potpisi:

- | | | | |
|----|--------------------------------------|--------|-------|
| 1. | izv. prof. dr. sc. Antun Kostelić | mentor | _____ |
| 2. | prof. dr. sc. Neven Antunac | član | _____ |
| 3. | izv. prof. dr. sc. Krešimir Salajpal | član | _____ |

Sadržaj

1. Uvod	1
2. Razrada literature	5
2.1. Uzgoj i hranidba paških ovaca	5
2.1.1. Paški sir.....	9
2.2. Morfologija mliječne žlijezde ovaca	10
2.3. Anatomija mliječne žlijezde ovaca	12
2.4. Zdravlje ovčjeg vimena	14
2.5. Somatske stanice	16
2.6. Određivanje somatskih stanica.....	18
2.7. Pravilnik o kakvoći svježeg sirovog mlijeka (NN 102/00)	20
2.8. Higijena ručne i strojne mužnje.....	20
2.9. Strojna mužnja i muzni uređaj	23
2.9.1. Pranje i čišćenje opreme za mužnju	24
3. MATERIJAL I METODE.....	25
3.1. Pokusne životinje	25
3.2. Mužnja.....	25
3.3. Uzimanje uzoraka za bakteriološku pretragu	26
3.4. Uzimanje uzoraka za određivanje broja somatskih stanica.....	26
3.5. Statistička obrada podataka	26

3.6.	Mikrobiološka pretraga	26
3.7.	Determinacija važnijih skupina uzročnika mastitisa	27
3.7.1.	Determinacija streptokoka	27
3.7.1.1.	CAMP test.....	27
3.7.2.	Determinacija stafilokoka	28
3.7.3.	Determinacija gram-negativnih uzročnika	28
3.7.4.	Poluautomatizirani sustav identifikacije Micronaut	29
3.7.4.1.	Micronaut RPO	29
3.7.4.2.	Micronaut-GNE	29
3.7.5.	Gram-negativni uzročnici	31
3.8.	Određivanje broja somatskih stanica.....	33
4.	Rezultati i rasprava.....	34
5.	Zaključak	37
6.	Popis literature.....	38
	Životopis.....	43

Sažetak

Diplomskog rada studenta Mislava Blažanovića, naslova

UTJECAJ NAČINA MUŽNJE NA ZDRAVLJE MLIJEČNE ŽLIJEZDE PAŠKE OVCE

Strojna mužnja uvedena je kako bi se olakšala i ubrzala mužnja, smanjio broj muzača te da bi se dobio higijenski ispravan proizvod. Cilj istraživanja je bio utvrditi razliku u broju subkliničkih upala vimena i broja somatskih stanica ručno i strojno muženih ovaca te izolirati najčešće uzročnike upala. U istraživanju su ispitani uzorci mlijeka izvorne hrvatske pasmine paške ovce uzgajane na otoku Pagu. Ispitano je 150 uzoraka, od kojih je 100 uzoraka ručno i 50 uzoraka strojno muženih paških ovaca. Od 150 uzoraka, u njih 17 je utvrđena prisutnost nekog od uzročnika subkliničke upale vimena, odnosno u 11,3 %. U prvom stadu, pozitivno je bilo 6 od 50 (12 %), u drugom stadu 4 od 50 (8 %), te u trećem stadu, gdje se provodi strojna mužnja ovaca, 7 od 50 (14 %) uzoraka. Najčešći uzročnik u ovom istraživanju bio je *Staphylococcus aureus* (u 70% slučajeva).

Ključne riječi: broj somatskih stanica, mastitis, mužnja, zdravlje mliječne žlijezde, paška ovca

Summary

Of the master's thesis – student Mislav Blažanović, entitled

INFLUENCE OF MILKING METHOD ON PAŠKA SHEEP MILK GLAND HEALTH

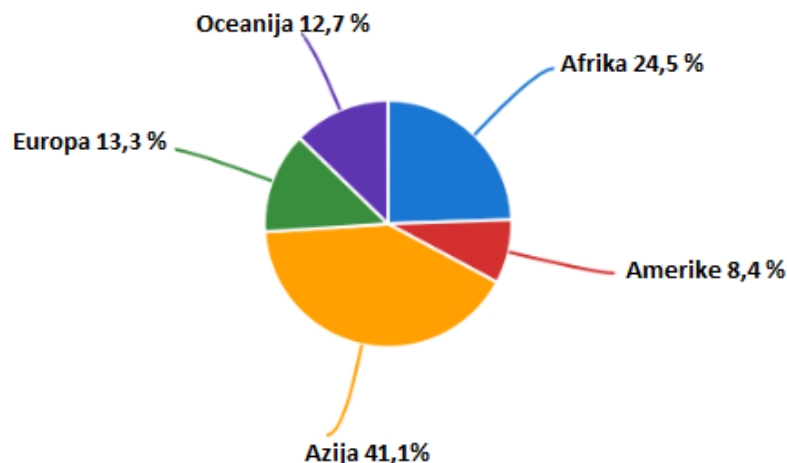
Machine milking has been introduced to facilitate and accelerate milking, reduce labor and to increase hygienically quality of product. The aim of this study was to determine a difference in number of subclinical inflammation of udder and somatic cells count and isolate most common microorganism that causes inflammation. Milk samples of original Croatian sheep breed farmed on island Pag, were tested. 150 samples were tested, 100 samples of hand milked and 50 samples of machine milked Paška sheep. 17 of 150 (11,3 %) were positive on some of microorganism known to cause subclinical inflammation. In first herd 6 out of 50 (12 %) samples were positive, in second 4 out of 50 (8 %) and in third herd, where sheep are machine milked, 7 out of 50 (14 %) were positive on pathogenic microorganism. The most common pathogenic microorganism was bacteria *Staphylococcus aureus* (in 70 % cases).

Keywords: number of somatic cells, mastitis, milking, milk gland health, Paška sheep

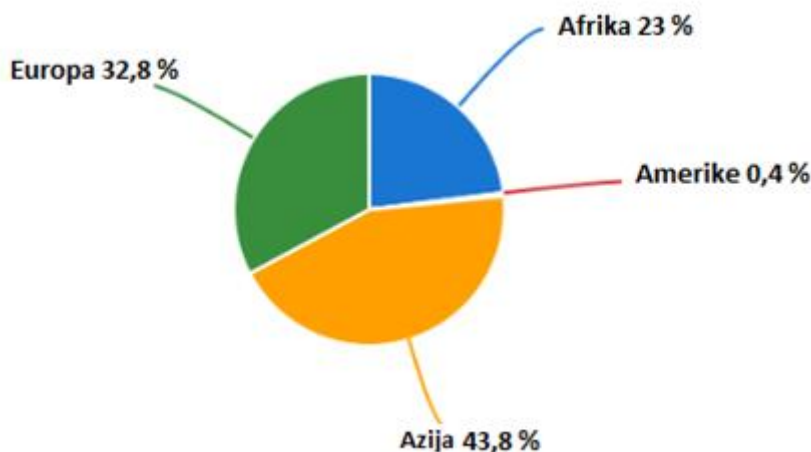
1. Uvod

Uzgoj ovaca na mediteranu i u Hrvatskoj ima dugu tradiciju. Zbog posebnih klimatskih, geografskih i pedoloških uvjeta, ovčarstvo je u mnogim zemljama vrlo važna gospodarska grana. Ovce su prilagodljive životinje, preživači, te zbog njihove otpornosti, skromnijih zahtjeva za hranidbom i smještajem, uzgajaju se diljem svijeta gdje je uzgoj drugih životinja ograničen ili nemoguć zbog oskudne vegetacije. U lošim klimatskim i vegetacijskim uvjetima, pretvaraju voluminozu, često loše kvalitete, u visoko vrijedne animalne proizvode, meso, mlijeko, vunu, kožu. Najviše proizvodnje i prerade mlijeka kod nas locirano je u priobalnom području, Dalmaciji, otocima, Istri te u kontinentalnom dijelu, Lici, Bilogori i Slavoniji. Temelji se na uzgoju izvornih pasmina ovaca uglavnom kombiniranog tipa (meso, mlijeko, vuna) koje su prilagođene našoj klimi i vegetaciji od kojih su paška i istarska najviše zastupljene te većem broju uvezenih pasmina ovaca bolje prilagođenih intenzivnom uzgoju od kojih je istočno-frizijska najzastupljenija. Od ostalih pasmina koje se koriste za mlijeko navode se bračka, creska, travnička pramenka te mnogi križanci (Pandek, 2005.). Izrazito dugu tradiciju i važnost uzgoja ovaca na ovim prostorima potvrđuje činjenica da je 1808. godine u Dalmaciji zabilježeno više od 1,1 milijun ovaca što je, u odnosu na ostatak Europe, bilo najviše ovaca po stanovniku (HSUOiK, 2011.).

Prema zadnjim podacima FAOSTAT-a (2014.) procjenjuje se da na svijetu ima oko 1,2 milijardi ovaca, 1,0 milijardi koza i 1,5 milijardi goveda. Od toga je 540 milijuna ovaca u Aziji, 340 milijuna u Africi, 130 milijuna u Europi, 86 milijuna u Americi, 102 milijuna u Australiji i Novom Zelandu. Uzima se da je od ukupno 1,2 milijarde ovaca u svijetu 230 milijuna mliječnih te one proizvedu 10,5 milijuna tona svježeg sirovog mlijeka što je 45,5 kg po ovci na godinu.

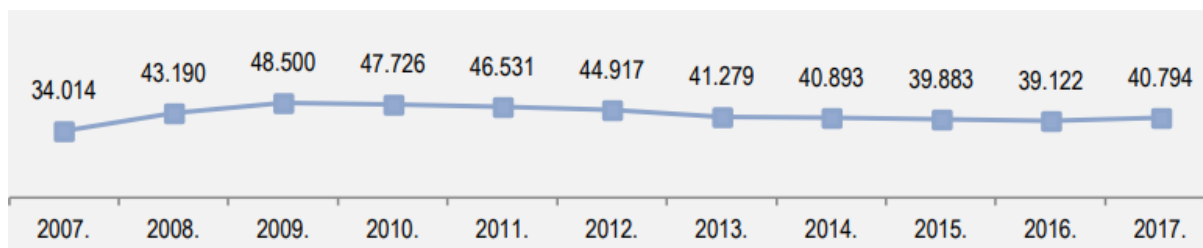


Grafikon 1. Udio po regijama od ukupnog broja ovaca na svijetu, prosjek 1993. – 2014. (FAOSTAT, pristupljeno 17.07.2017.)

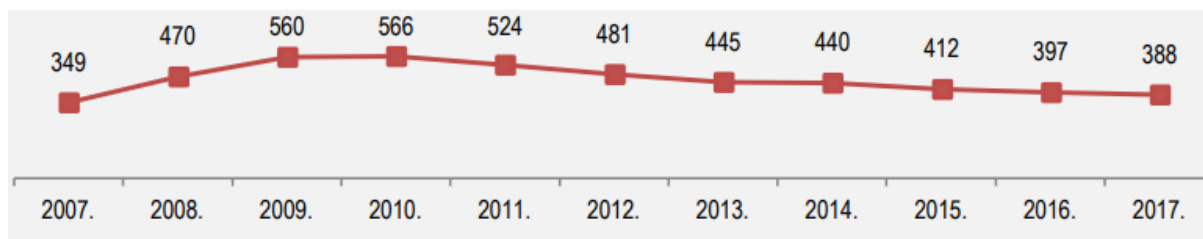


Grafikon 2. Udio proizvodnje mlijeka po regijama, prosjek 1993. – 2014. (FAOSTAT, pristupljeno 17.07.2017.)

Usporedi li se Grafikon 1. i Grafikon 2., vidljivo je da Oceanija, Sjeverna i Južna Amerika ovce uzgajaju isključivo zbog mesa i mesnih prerađevina te jedan dio zbog vune. Međutim, Europa, sa samo 13,3 % od ukupne svjetske populacije ovaca, proizvodi 32,8 % od svjetskog mlijeka. Iz tih podataka je vidljiva viša mliječnost ovaca u Europi koje se većinom uzgajaju na području Sredozemlja kamo pripada Hrvatska, odnosno otok Pag.



Grafikon 3. Broj uzgojno valjanih ovaca od 2007. do 2017. (HPA, 2017.)



Grafikon 4. Broj uzgajivača od 2007. do 2017. (HPA, 2017.)

Iz grafikon 3. vidljiv je blagi porast broja uzgojno valjanih ovaca u Republici Hrvatskoj 2017. godine u odnosu na 2016. Iz grafikona 4. vidljiv je pad broja uzgajivača ovaca u RH.

Paška ovca je nastala na otoku Pagu te je jedna od najmlječnijih i najbrojnijih izvornih pasmina ovaca u Hrvatskoj. Na otoku Pagu se uzgajao otočni tip pramenke koja je bila osnova za stvaranje izvorne paške ovce kakva je danas poznata. Kroz prošlost se paška ovca oplemenjivala drugim pasminama ovaca kako se mijenjao proizvodni cilj. Isprva je proizvodni cilj bila vuna za kojom je bio veliki interes. To je rezultiralo križanjem se merino Negretti ovnovima, križancima merino x pramenka i Southdown ovnovima (1870. i 1936.) te se križanje 1870. godine smatra presudnim za današnji izgled paške ovce (HPA). U drugoj polovici 20. stoljeća porastao je interes za mlijekom i posebno sirom, čime je selekcija krenula u tom smjeru.

Procjenjuje se da je na otoku Pagu oko 30 000 rasplodnih ovaca te ukoliko se pridodaju ovnovi i podmladak, ukupan broj ovaca se kreće oko 35 000 (www.hpa.hr). Broj paških ovaca koji su obuhvaćeni uzgojno selekcijskim radom je znatno niži.

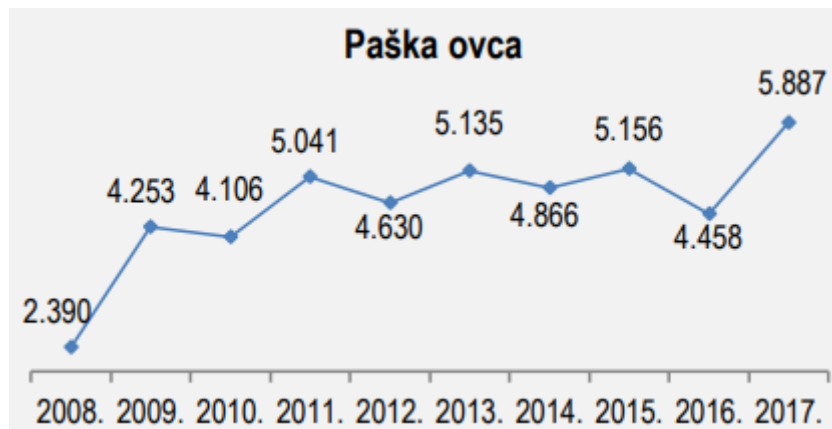
Broj uzgojno valjanih paških ovaca prikazuje tablica 1.

Tablica 1. Broj uzgojno valjanih paških ovaca

Paška ovca	Ovce	Šilježice	Ovnovi	Ukupno
2014.	3 934	744	188	4 866
2015.	4 388	595	173	5156
2016.	3 681	642	135	4 458
2017.	4 774	868	245	5 887

HPA Godišnje izvješće (2017.)

HPA (2017.) navodi procjenu populacije paške ovce od 30 000, broj uzgojno valjanih grla od 5887, 52 proizvođača te prosječnu veličinu stada od 113 ovaca.



Grafikon 5. Broj uzgojno valjanih grla od 2008. do 2017. (HPA, 2017.)

2. Razrada literature

2.1. Uzgoj i hranidba paških ovaca

Paške ovce se drže slobodno na pašnjacima koji su uglavnom ograđeni suhozidom tijekom dana i noći tijekom cijele godine. Hranidba se temelji na paši slabe hranjive vrijednosti koja sadrži ljekovito i eterično bilje. Zbog škrtih kamenjara na kojima ovce pasu, potrebno je dodavati sijeno, kukuruz i krmnu smjesu. Uz male količine domaćeg sijena koje se sije na Pagu (lucerna), glavne potrebe nabavljaju se u Lici i Istri. Ovce zimi dobivaju oko 1 kg sijena dnevno. Tridesetak dana pred početak laktacije veći broj uzgajivača počinje prihranjivati kukuruzom (450 – 600 g dnevno), što se nastavlja tijekom laktacije i to uglavnom do početka vegetacije, nakon čega su pašnjaci jedini izvor hrane.

Istraživanjem flore, navode Ljubičić i suradnici (2012.), mogu se utvrditi mnogobrojne biljne svojte koje su se razvile u pukotinama među kamenjem gdje se zadržalo malo plodnog tla. Otok Pag je uglavnom bez šumskog vegetacijskog pokrova, gdje je jasno uočljiv degradacijski stadij u obliku velikih kamenjarskih površina koje služe kao pašnjaci za ovce.

Barać i sur. (2008.) navode vrlo intenzivno širenje sobine (*Juniperus sobina*) koja je prekrila vrlo veliku površinu otoka Paga te smanjuje pašnjačke površine.

Faričić (2004.) i Ljubičić (2008.) navode postojanje bitnih razlika u bogatstvu biomasom i botaničkom raznolikošću između sjeveroistočnog i jugozapadnog dijela otoka Paga. Tako je sjeveroistočni dio otoka izrazito izložen buri i oskudne je vegetacije, dok je jugozapadni dio manje izložen buri sa znatno raznovrsnijom i obilnijom vegetacijom, što utječe na količinu i kemijski sastav proizvedenog mlijeka paških ovaca.

Značajan izvor varijabilnosti u proizvodnji mlijeka je i stado kao rezultat razlika u menadžmentu u pojedinim stadima ovaca. Razlike u menadžmentu na pojedinim farmama, ističu Barać i sur. (2012.), prvenstveno se odnose na kvalitetu hranidbe, što je izravno povezano s kvalitetom dostupnih pašnjaka.

Prema HPA, otok Pag, većim dijelom prekrivaju kamenjari (oko 83 %), a u nižim dijelovima otoka nalaze se aluvijalne i diluvijalne tvorevine - paška polja i blata. Područje otoka

karakterizira blaga i suha mediteranska klima. Vegetacijski pokrov je pod direktnim utjecajem koncentracije soli u tlu i čestih posolica koje se javljaju nakon bura, koja se na mahove spušta sa obližnjeg Velebita. Smatra se da je za kvalitetu paške janjetine i paškog sira zaslužan upravo specifičan biljni pokrov, s mnogim vrstama aromatskog bilja.

Mrkanje ovaca odvija se uglavnom tijekom kolovoza i rujna, tako da se janjenje odvija uglavnom u prosincu, siječnju i veljači. HPA navodi sljedeću raspodjelu janjenja tijekom godine, Tablica 2.

Tablica 2. Postotak janjenja po mjesecima (HPA Godišnje izvješće, 2016.)

Mjesec	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.
%	47,49	7,66	3,98	3,32	0,96	0,06	0,00	0,00	0,00	0,30	7,66	28,56

Gabrić (2016.) navodi da je pripust uglavnom haremski, što znači da se jedan rasplodni ovan pripušta na 30 do 50 ovaca, ovisno o veličini stada, pri čemu je poznato porijeklo po ocu ali se ne vodi evidencija o broju skokova i vremenu pripusta. Planski pripust je prisutan u stadima obuhvaćenih uzgojno selekcijskim radom tj. uzgojnim programima, pri čemu uzgajivači vode evidenciju o vremenu pripusta, broju skokova, uspješnosti koncepcije.

Plodnost je oko 120-140 %. Janjad siše do 30 dana. Iznimno, dulji vremenski period, s majkom ostaje janjad namijenjena za remont (do 45 dana). Porodne mase janjadi kreću se oko 3 kg. Tjelesna masa janjadi u dobi 30-45 dana je 12-15 kg. Nakon razdoblja sisanja, ovce se muzu oko 5 mjeseci, tako da je prosječna duljina laktacije oko 180 dana i za to vrijeme paška ovca proizvede (prosječno za 2016. godinu 137,02) 120-250 i više litara mlijeka (HPA).

Tablica 3. prikazuje broj zaključenih laktacija, duljinu laktacija, razdoblje mužnje, ukupnu proizvodnju mlijeka i masu mlijeka u razdoblju mužnje.

Tablica 3. Parametri proizvodnje paške ovce. (HPA, 2016.)

Duljina laktacije (dana)	Razdoblje mužnje (dana)	Ukupna proizvodnja mlijeka (kg)	Proizvodnja mlijeka u razdoblju mužnje (kg)
164	130	137,02	107,46

Paške ovce sa rekordnom mliječnosti (prve tri) za 2016. godinu su imale: 467 kg, 351 kg i 350 kg u laktaciji (HPA, 2016.).

Paška ovca sa rekordnom životnom proizvodnjom u 10 laktacija dala je 2282 kg mlijeka (HPA, 2016.).

Prosječan udio mliječne masti i mliječnog proteina u mlijeku paških ovaca prikazuje tablica 4.

Tablica 4. Udio mliječna masti (M.M.) i mliječnog proteina (M.P.) u mlijeku paške ovce (HPA, 2016.)

Parametar	%	kg/laktacija
M.M.	6,97	7,42
M.P.	5,94	6,35

Mliječna mast je uz proteine najvažniji sastojak mlijeka i sira, jer utječe na okus, aromu i konzistenciju, tijekom zrenja i randman sira. U pravilu je udio mliječne masti u mlijeku veći pri večernjoj nego pri jutarnjoj mužnji, kada ovce proizvode i više mlijeka (Antunac i suradnici, 2008.).

Ovce na Pagu gotovo u potpunosti se muzu ručno kao i u većini mediteranskih zemalja. Način mužnje određuje mikrobiološku kvalitetu mlijeka, ali ne i kemijski sastav mlijeka. Količina mliječne masti i mliječnog proteina je ista i pri strojnoj i ručnoj mužnji. Za ručnu mužnju potrebno je od 2 do najviše 5 minuta, provodi se u otvorenim ili zatvorenim prostorima koji bi trebali biti čisti, suhi i svijetli. Ručna mužnja češće za posljedicu ima povišen broj mikroorganizama od strojne. Međutim, ne poznavanje pravila strojne mužnje, ne poznavanje

rada muznog uređaja, loše održavanje mehaničkih dijelova i higijene muznog uređaja, može dovesti do loše higijenske kvalitete ovčjeg mlijeka te do oštećenja sisa i vimena ovaca što može biti u većim razmjerima u odnosu na ručnu mužnju.

Mioč i suradnici (2007.) navode kako je za dnevnu količinu proizvedenog mlijeka, kao i ukupnu laktaciju, važno voditi računa o vremenu mužnje, učestalosti, tj. broju dnevnih mužnji i razmaku između mužnji, budući da je u ovaca utvrđen autokrini sustav kontrole lučenja mlijeka.

Istraživanjem Antunac i sur. (2011.) je utvrđen značajan utjecaj stadija i redoslijeda laktacije na prosječnu dnevnu količinu mlijeka i analiziran kemijski sastav mlijeka. Paške ovce vrh dnevne proizvodnje mlijeka ostvarile su sredinom laktacije (773 g), odnosno u 3. laktaciji (712 g). Višu količinu mlijeka za pašku ovcu navode Vukašinović i suradnici (2008.) koja iznosi 870 grama.

Prema Mioč i suradnicima (2007.), poželjna visina postolja na kojemu ovce stoje za vrijeme mužnje iznosi između 80 i 90 centimetara. Oblik i kapacitet izmuzišta treba biti prilagođen veličini stada i tehnološkom procesu.

Unatoč dugoj tradiciji ručne mužnje, u ovčarniku, toru ili na pašnjaku, u stadima s više od 40 ili 50 ovaca na mužnji, sve je veći interes za strojnom mužnjom. U većim stadima, u suvremenoj proizvodnji ovčjeg mlijeka, izmuzište, sa muznim uređajem, mljekovodom i uređajem za hlađenje mlijeka, neizostavni je dio ovčarske farme. Prednosti strojne mužnje u odnosu na ručnu su smanjenje utroška ljudske radne snage, ubrzavanje procesa mužnje i ako se provodi po pravilima, dobivanje mlijeka s boljom higijenskom kvalitetom jer mlijeko ne dolazi u konatakt s vanjskom sredinom.

Hlađenje mlijeka je ključno u održavanju dobre mikrobiološke kvalitete ovčjeg mlijeka. Mnogi pašnjaci na kojima ovce borave su vrlo udaljeni od mjesta na kojemu se hladi mlijeko. Ako uzgajivači ručno muzu ovce, pri višim temperaturama, nose sa sobom na mužnju boce sa zaleđenom vodom te hlade mlijeko odmah pri mužnji.

Psihrotrofne bakterije kao što su *Pseudomonas*, *Leuconostoc* i *Micrococcus*, mogu rasti i razmnožavati se i na temperaturama nižim od 7 °C te proizvode lipolitičke i proteolitičke enzime koji destabiliziraju kazeinske micidele i mijenjaju osobine zgrušanog mlijeka (Antunac i Havranek, 1999.). Razmnožavanje takvih bakterija pri nižim temperaturama je znatno sporije,

no higijena mužnje i čistoća opreme su ključni čimbenici u dobivanju higijenski ispravne sirovine za daljnju preradu uglavnom u poznati paški sir. Paški sir je tvrdi sir te zrije dulji vremenski period, zato se pridaje velika pažnja higijeni mužnje. Svaka nečistoća kako pri mužnji tako i preradi može se očitovati tek nakon duljeg vremena zrenja.

2.1.1. Paški sir

Budući da najveći dio ukupne hrvatske populacije ovaca čine pasmine kombiniranih proizvodnih odlika (meso, mlijeko, vuna), u velikom broju stada ovce se koriste za proizvodnju mesa i mlijeka. Koji će proizvod biti primaran, ovisi o pasmini, stanju na tržištu, tradiciji te navikama, mogućnostima i potrebama samoga gospodarstva (Mioč i suradnici, 2011.).

Kuzmić (2016.) navodi kako je u posljednje vrijeme znatno povećan interes za uzgoj ovaca radi proizvodnje mlijeka koje se u mljekarama (industrijski) kao i na brojnim obiteljskim gospodarstvima uglavnom prerađuje u različite vrste sireva.

Paški sir je najcjenjeniji hrvatski sir geografskog podrijetla proizveden od mlijeka paške ovce. Posebnost paškog sira je u otoku Pagu, njegovoj vegetaciji koja vrlo oskudna ali i posebna zbog raznog aromatičnog bilja te posolice koju s mora donosi bura tijekom zime (www.paskasirana.hr).

Mladi se prepoznaje po blagom, slankastom okusu i svijetloj boji dok je stari sir pikantan, tvrđi i tamnije je boje (www.paskasirana.hr).

Ovčji sir na otoku Pagu se proizvodi od davnina. Kako je današnja paška ovca križanjem formirana 1870. godine, može se pretpostaviti da je to godina kada paški sir dobiva današnji okus (Barać i sur., 2008.).

Higijensku kvalitetu mlijeka određuje broj somatskih stanica i ukupan broj mikroorganizama. Na osnovi broja somatskih stanica u 1 mL mlijeka, može se procijeniti zdravstveno stanje mliječne žlijezde. Za proizvodnju sira smije se koristiti samo mlijeko dobre higijenske kvalitete (Vukašinović, 2008.).

Za proizvodnju 1 kg paškog sira potrebno je od 5,5 do 7 litara mlijeka, ovisno o količini mliječne masti u mlijeku odnosno starosti sira. Naime, zrenjem sir gubi na težini tako da bi za kilogram zrelijeg sira trebalo nešto više mlijeka (Barać i sur., 2008.).

Proizvodnja paškog sira, neovisno koristi li se u proizvodnji sirovo ili pasteurizirano mlijeko, započinje sirenjem mlijeka na temperaturi od oko 30°C. Zgrušavanje mlijeka traje oko 1 sat. Nastali sirni grušk se usitnjava do sitnih sirnih zrna veličine približno 3 mm. Slijedi postupak sušenja sirnih zrna na temperaturi između 41 i 43 °C u trajanju 10 – 15 minuta, te njihovog taloženja na dno sirarskog kotla. Potom se pripremljena sirarska gruškavina stavlja u kalupe te pomoću preše tlači (Barać i sur., 2008.).

Razlikujemo mladi paški sir zrelosti 2 mjeseca te potpuno zreli paški sir starosti od 4 do 12 mjeseci. Mladi paški sir ima slabo elastičnu, svijetložutu lako rezivu teksturu ugodnog pikantnog okusa. Potpuno zreli sir je tamno žute boje, tvrde granulirane strukture i pikantnog okusa te se rezanjem nepravilno lomi (Barać i sur., 2008.).

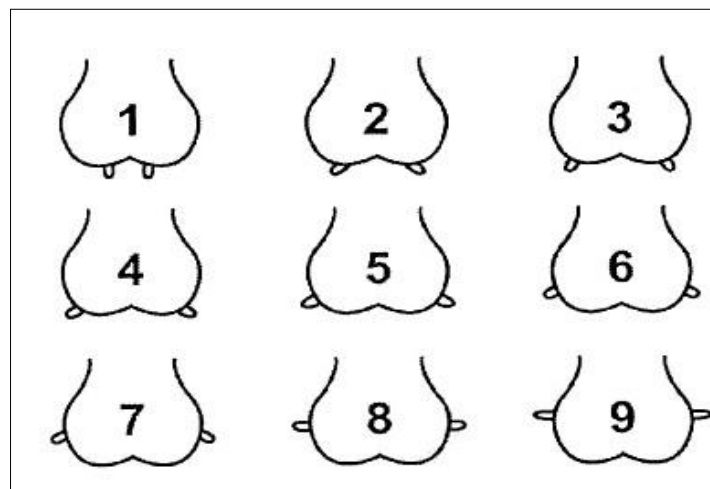
Uz paški sir, paška janjetina je još jedan od značajnih proizvoda na Pagu. Paška janjetina je meso dobiveno klanjem mlade muške i ženske sisajuće janjadi, ojanjene od istoimene hrvatske zaštićene izvorne pasmine ovaca – paške ovce koju se uzgaja isključivo na otoku Pagu (Udruga uzgajivača paške ovce, 2014.). Dob klanja janjadi je između 25 i 45 dana, klaoničke mase 7 do 16 kilograma.

2.2. Morfologija mliječne žlijezde ovaca

Morfologija i zdravlje ovčjeg vimena vrlo su važni čimbenici u proizvodnji ovčjeg mlijeka i mliječnih prerađevina što se posebno očituje kod strojno muženih ovaca. Zbog smanjenja troškova proizvodnje i dobivanja higijenski kvalitetnog proizvoda u odabiru ovaca za rasplod sve više se pridaje pažnje na morfologiju vimena. Selekcija je usmjerena prema povećanju mliječnosti, no u razvijenim zemljama se provodi tako da visoka mliječnost negativno ne utječe na morfologiju i zdravlje vimena (Kuzmić i sur., 2016.). Čaja i sur. (2000.) navode kako pravilno razvijeno i zdravo vime u visoko-mliječnim pasmina ovaca, osobito onih koje se muzu strojno, treba biti velikog obujma i okruglo, zatim dobro pričvršćenog trbuh, osrednje dubine, ne prelazeći visinu skočnog zgloba. Vime treba imati srednje velike sise, postavljene vertikalno, ili barem što više vertikalno s mekim i elastičnim tkivom i dobro izraženim intermamarnim žlijebom. No to nije lagano ostvariti. Isti autori ističu kako povećanjem proizvodnje mlijeka povećava se i pritisak na suspenzorni sustav vimena koji se sastoji od širokih ligamenata koji

se spuštaju od zdjeličnih kostiju te dijele vime, stvarajući intermamarni žlijeb, na dvije polovice. Također, mogu popustiti i ligamenti koji vežu vime sa trbušnom stijenkom. Povećanjem količine mlijeka i starenjem životinje, središnji suspenzorni ligament postaje sve više napet i vime se proteže ventralno. Moguća je i ruptura nekog od ligamenata čime se vime približava podu te je podložno mehaničkim oštećenjima i upalama. Time se skraćuje proizvodni vijek i takvo vime nije pogodno za strojnu mužnju.

Kod strojne mužnje vrlo je važan položaj sisa. Kod ovaca je moguće nekoliko oblika vimena. Kut položaja sisa u donosu na vime prikazuje slika 1.



Slika 1. Prikaz tipova vimena kod ovaca (Prpić Z., Interni nastavni materijal, 2014.)

Tipovi sa višim brojem su izrazito nepovoljni za strojnu mužnju, čak i nemogući. Zbog takve morfologije vimena produljuje se trajanje mužnje, nije moguće pravilno postavljati sisne čaške koje mogu opadati te nije moguće izmisti cjelokupno mlijeko. Rezidualno mlijeko u vimenu je nepovoljno zbog veće mogućnosti pojave upalnih procesa te je ekonomski gubitak kroz mlijeko, liječenja i izlučenja.

Konkretno, na paškoj ovci, tipove vimena prikazuje fotografija 1. (A,B,C,D).



(A) Tip vimena 1



(B) Tip vimena 2



(C) Tip vimena 3



(D) Tip vimena 4

Fotografija 1. (A,B,C,D) (Prpić Z., Interni nastavni materijal, 2014.)

2.3. Anatomija mliječne žlijezde ovaca

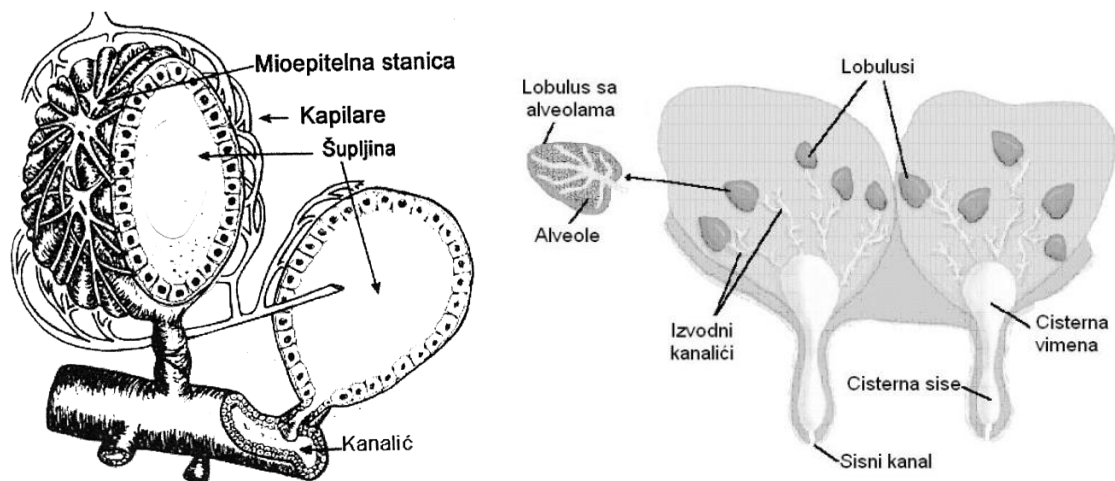
Vime ili mliječna žlijezda (*glandula lactifera, mamma*) je važan organ svih ovaca, bez obzira na uzgojni cilj. Poželjno je zdravo i pravilno razvijeno vime, bez pasisa i bradavica. Mamogeneza (rast i diferencijacija mliječne žlijezde), koja se odvija pod utjecajem endokrinog sustava, sastoji se od raste do prve koncepcije (oplodnje) te cikličkih aktivnosti koje obuhvaćaju glavnu fazu rasta koja se odvija tijekom gravidnosti, a karakterizira ju formiranje tubuloalveolarnih struktura, zatim fazu sinteze i sekrecije, fazu involucije koju karakterizira regresija tubuloalveolarnih struktura (Prpić, 2010.). Isti autor ističe najintenzivniji rast mliječne žlijezde u gravidnosti koji iznosi 98 % te 2 % tijekom rane laktacije. Ubrzani rast tijekom gravidnosti potiču hormoni progesteron, kojeg tijekom gravidnosti izlučuje *corpus luteum*, zatim prolaktin, hormon rasta (STH) te placentalni laktogen. Broj sekretornih epitelnih stanica vimena najveći je nakon partusa. Istovremeno, sekrecijska aktivnost po pojedinoj epitelnj

stanicije najmanja. Proizvodnja mlijeka po epitelnoj stanici povećava se do vrha laktacijske mliječnosti, a zatim ostaje konstantna.

Kao posljedica smanjenja lučenja prolaktina dolazi do apoptoze, fiziološkog odumiranja (propadanja) epitelnih stanica te dolazi do smanjenja mliječnosti nakon dostizanja vrha laktacije. Nastupa involucija mliječne žlijezde, postupna regresija mliječne žlijezde čime se smanjuje volumen vimena (Prpić, 2010.).

Građa, razvijenost izdravlje vimena je od presudne važnosti količinu i sastav proizvedenog mlijeka. Mliječne žlijezde ovaca su parne, tubuloalveolarnog tipa (Mioč i suradnici, 2007.). Isti autori navode da se svaki mamarni kompleks sastoji od žljezdanog tkiva u kojem se stvara mlijeko i od sise. U žljezdanom tkivu su alveole u kojima se stvara i luči mlijeko.

Građu alveole prikazuje Slika 2. (A i B).



Slika 2. A. Građa osnovne funkcionalne sekrecijske jedinice – alveole. (Prpić Z. – interni nastavni materijal, 2010.)

Slika 2. B. Građa vimena (www.polj.uns.ac.rs.)

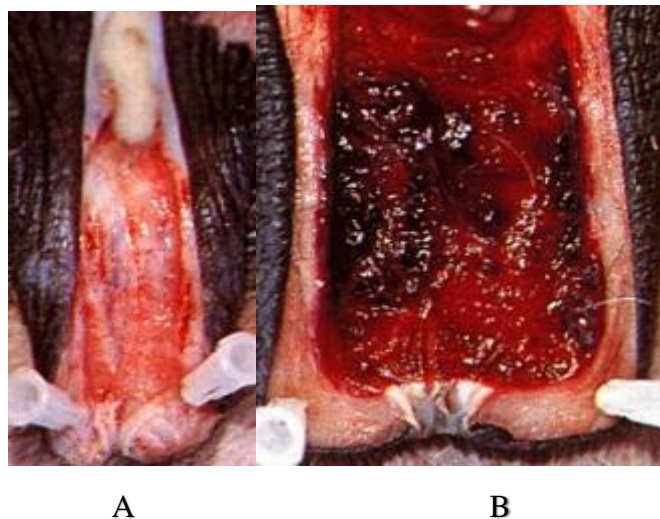
Grozdasto složene alveole tvore režnjić (*lobulus*), a više režnjića tvore režanj (*lobus*). Mijeko prema mliječnoj i sisnoj cisterni putuje intralobularnim i interlobularnim kanalićima. Intralobularni kanalići se sjedinjuju u interlobularne kanaliće te se oni postupno proširuju i odlaze u mliječnu cisternu (*sinus lactifer*) (Havranek i Rupić, 2003.). Iz tih cisterni mlijeko teče papilarnim kanalićima kroz sisne otvore. Svaka sisa ima po jednu cisternu i po jedan sisni kanal izvana zatvoren kružnim mišićem (sfinkterom) koji se sastoji od glatkih mišićnih vlakana i

elastičnog tkiva. Taj sfinkter sprječava izlazak mlijeka iz vimena i ujedno ne dopušta ulazak prljavštine i mikroorganizama (Mioč i suradnici, 2007.). Isti autori navode kako je mliječna cisterna elastična što omogućava da se u njenim šupljinama nalazi od 60 do 70 % mlijeka koje se izluči između dviju mužnji. Marnet i McKusick (2001.) navode 75 % cisternalnog i 25 % alveolarnog mlijeka.

2.4. Zdravlje ovčjeg vimena

Nepravilnim korištenjem muznog uređaja, u kombinaciji sa lošom hranidbom i higijenom smještaja, dolazi do povećanja broja somatskih stanica u mlijeku i do upala mliječne žlijezde – mastitisa. Mastitis mogu uzrokovati najčešće bakterije, zatim virusi, gljivice i plijesni. Uzročnici se nalaze posvuda oko životinje, a najčešći izvor zaraze su staja, ispušt, zaraženo vime, novo nabavljene životinje. Do mastitisa dolazi, u većini slučajeva, ulazom štetnog uzročnika kroz sisni kanal u mliječnu žlijezdu, zatim mehaničkim oštećenjem vimena, ukoliko janje sisa više ovaca, rukama muzača i sisnim čaškama, deficitom i prekomjernom količinom nekog od komponenata obroka (minerala, vitamina) ili ulaskom uzročnika iz organizma preko krvi i limfe. Rupić (2010.) navodi da u nastanku akutnog gangrenoznog ili flegmonoznog mastitisa ovaca, doprinose poverde sisa i vimena nastale oštrim predmetima (oštra stelja, napasivanje na strništima, ograde od bodljikave žice, tjeranje ovaca krzo šikare i gustiš). Takve upale vimena uzrokuju jedna ili više vrsta patogenih bakterija, npr. *Micrococcus ovinus*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium septicum*, *Mycoplasma agalactiae*, *Arcanobacterium pyogenes*, streptokoki. Uzročnici mastitisa su brojni. Mogu to biti i virusi, koksije (*Coxiella burnettii*), mikoplazme te najčešće bakterije. Najčešće su to vrste rodova *Streptococcus* (*agalactiae*, *dysgalactiae*), *Enterococcus* (*faecalis*, *faecium*), *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium*, *Brucella*, *Clostridium*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Pasteurella*. Gljivice roda *Aspergillus* i njihovi toksini također uzrokuju mastitis te neke alge bez klorofila. Isti autor navodi i znakove bolesti koji su vrlo slični i uočljivi. Bolest ima vrlo buran tijek, upaljena polovica vimena otekne, na dodir je topla i bolna. Oteklina se trajanjem bolesti povećava, može se proširiti na trbuh i na unutrašnju stranu stražnjih nogu. Vime poprima plavocrvenu do crnu boju. Iz upaljenog dijela vimena izlazi gnoj, krvav sadržaj vrlo neugodan na miris. Ovca stoji

stražnjim nogama u raskoraku, oprezno hoda, zaostaje za ostatkom stada. Prestaje konzumirati hranu te joj se tjelesna temperatura povisi. Može doći i do apscesa, gnojnih čvorova, koji nakon nekoliko tjedana puknu, gnoj se izlije, a rane postupno zarastu. Ponekad polovica vimena otpadne (nekrotizira), ili bude očahurena vezivnim tkivom. Često u tijeku akutne upale vimena ovce ugibaju. Uspjeh liječenja ovisi o brzini intervencije i pravilnom izboru lijekova. Ukoliko je bolest uočena, potrebno je pozvati veterinara koji daje antibiotik, aplikacijom u mišić te u vime. Štete od mastitisa kao najskuplje bolesti u stočarstvu su vrlo visoke. Osim troškova liječenja oboljelih ovaca, niže mliječnosti, promjenama u kemijskom sastavu mlijeka, štete su i zbrinjavanje takvog mlijeka (sekreta mliječne žlijezde koje ne odgovara definiciji mlijeka), ne mogućnosti korištenja takvog mlijeka zbog karence antibiotika, životinja mora biti pomužena zadnja. Ukoliko se mastitis i izliječi, sekrecijski parenhim, koji je oštećen upalnim procesom, zamjenjuje se vezivnim tkivom, čime mliječna žlijezda ima manji kapacitet za sekreciju. Ukoliko je upala neizlječiva ili je liječenje ekonomski neopravdano, životinja se izlučuje iz stada. Postoji mogućnost i pojave septikemije, pobačaja i uginuća. Prikaz presjeka zdravog sisnog kanala i sisnog kanala prikazuje fotografija 2. (A, B).



Fotografija 2. A: Sisni kanal zdrave životinje; B: Sisni kanala zahvaćen upalnim procesom (Kalit S., 2009.)

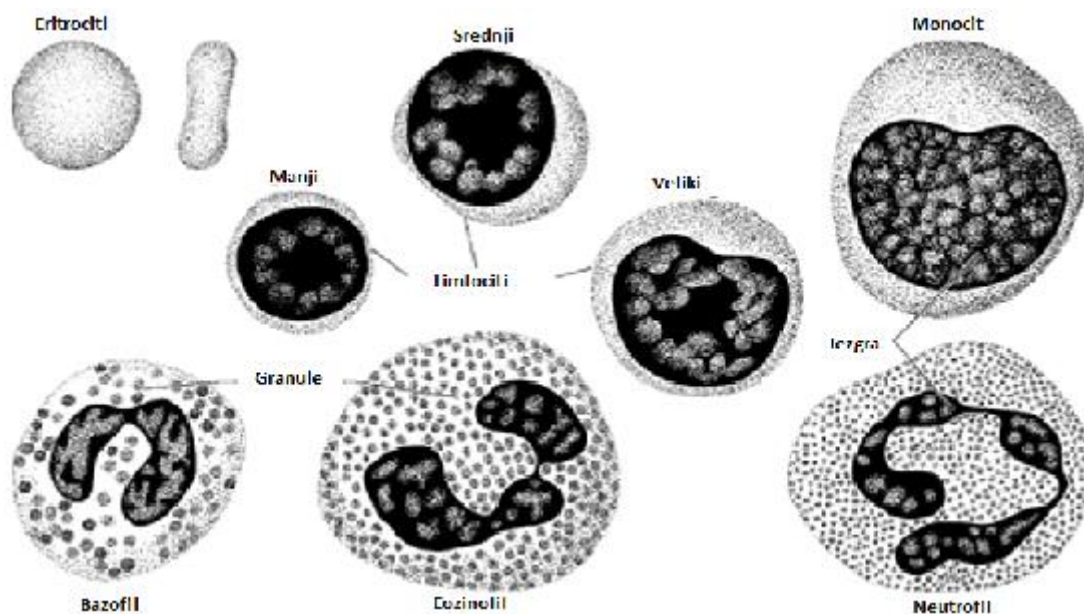
Ako dođe do pojave mastitisa, ovcu je potrebno odmah odvojiti od stada. Rupiće (2010.) ukazuje da tijekom janjenja potrebno osigurati čiste i prostrane nastambe i dovoljne količine higijenski ispravne stelje koja nije gruba s oštrim i bodljikavim travama (trnjem). Ovčarnike treba redovito čistiti i dezinficirati te nastojati da ograde i pregrade nemaju oštre bridove.

Kostelić i sur. (2018.) higijenu poda kao jednom od najvažnijih čimbenika kada je zdravlje stada u pitanju. Ovce se drže uglavnom na dubokoj stelji, no u nekim dijelovima Hrvatske, kakav je slučaj u Dalmaciji i otocima, slama se teško nabavlja i nepoželjna je u gnoju koji se koristi za maslinike i vinograde, navode isti autori. Kao važan čimbenik ističu i vlažnost poda na kojima ovce borave, janje se i leže. Visoka vlažnost poda utječe na zdravlje papaka, kože, vimena (mastitisi). Nadalje, autori navode kako većina uzgajivača liječenje provode sami, bez pomoći veterinara, uz ilegalnu nabavku lijekova (antibiotika, antiparazitika) unutar i izvan granica RH, dovodeći u pitanje zdravlje potrošača i zdravlje ovaca te time krše zakon RH.

Selekcijom na višu količinu mlijeka, ovce postaju manje otporne na uzročnike upala. Do upala mliječne žlijezde dolazi i ukoliko ovca ima neku od brojnih zaraznih bolesti. Dolazi do pada opće otpornosti organizma te je ugroženo zdravlje ovaca, janjadi i ljudi iz razloga što su velika većina tih bolesti zajedničke životinjama i ljudima – zoonoze.

2.5. Somatske stanice

Somatske stanice su u ovčjem mlijeku su pokazatelj zdravlja mliječne žlijezde. Somatske stanice su primarno epitelne stanice i bijele krvne stanice – leukociti. Potječu iz sekretornog tkiva, epitelne stanice (mliječni kanalići, alveole, cisterna) i iz krvi (leukociti). Postoji više različitih tipova stanica, a dominiraju polimorfonuklearni neutrofili, makrofazi i limfociti. Izgled somatskih stanica prikazuje Slika 3.



Slika 3. Izgled somatskih stanica (Dolenčić Špehar I., interni nastavni materijal, 2005.)

Za vrijeme infekcije mliječne žlijezde, prema Antunac i Havranek (2013.), najveći broj somatskih stanica nalikuje polimorfonuklearnim neutrofilima, koji migriraju na mjesto infekcije te imaju obrambenu ulogu od bakterija. U slučaju upale, u mlijeku prevladavaju leukociti sa 95 %, dok je broj epitelnih stanica znatno niži. Od ukupnog broja leukocita najveći broj čine makrofagi (46 – 84 %), polimorfonuklearni neutrofili (2 – 28 %) i limfociti (11 – 20%).

Pored infekcije, kao najznačajnijeg faktora koji utječe na broj somatskih stanica, Antunac i Havranek (2013.) navode kako na broj somatskih stanica utječu i: stadij i redoslijed laktacije, dob muzare, mužnja, način držanja, hranidba, pasmina i stres. Također navode povećanje broja somatskih stanica za 16 % pri izloženosti životinje toplinskom stresu.

Broj somatskih stanica u ovčjem mlijeku odlikuje velika varijabilnost (Antunac i Havranek, 2013.). On je djelomično visok u kolostrumu i na kraju laktacije. Somatske stanice se mogu grupirati tri tipa stanica: epitelne stanice, krvne stanice i citoplazmatske čestice. Ovčje mlijeko fiziološki sadrži viši broj somatskih stanica od kravljeg. Uzrok tome je povećano odbacivanje epitelnih stanica što je normalan, fiziološki proces u mliječnoj žlijezdi ovaca. To je razlog nepreciznosti broja somatskih stanica kao pokazatelja zdravlja mliječne žlijezde kod ovaca u odnosu na mliječnu žlijezdu krava. U Francuskoj je prosječan broj somatskih stanica za ovčje mlijeko, za različite pasmine, približno 700 000 i 800 000 / mL (Antunac i Havranek, 2013.)

Isti autori navode prosječan broj somatskih stanica, u Španjolskoj pokrajini Castilla y Leon, koji iznosi 1 500 000 / mL. U EU nije određena granična vrijednost broja somatskih stanica u ovčjem mlijeku.

Somatske stanice se određuju zbog kontrole zdravlja ovaca, prevencije pojave mastitisa, procjene provođenja higijene kod proizvođača i poboljšavanja kvalitete proizvoda jer somatske stanice imaju utjecaj na preradbene osobine mlijeka koji se na Pagu gotovo u potpunosti prerađuje u punomasni, tvrdi sir. Dolazi do promjena u kemijskom sastavi mlijeka koje negativno utječe na kvalitetu paškog sira. Randman sira je snižen, lošije su koagulacijske osobine mlijeka, gruš je mekši, produljeno je vrijeme za sirenje, veći je gubitak masti sirutkom, manja je iskoristivost sastojaka mlijeka te dolazi do biokemijskih promjena tijekom zrenja sira. Kalit (2013.) navodi da mlijeko sa povišenim brojem somatskih stanica može utjecati na tijek zrenja sira kroz dva izvora proteolitičkih enzima čija se koncentracija povećava kod mastitisa. Prisutni su enzimi somatskih stanica i enzimi koji u mlijeko dopijuju kao što je alkalna proteaza plazmin. Kod mastitisa povećana je i hidroliza mliječne masti zbog veće koncentracije lipoproteinske lipaze te je lipazama olakšan pristup trigliceridima smještenih u unutrašnjosti kuglica. Prilikom mastitisa pH mlijeka raste iznad fiziološkog, koncentracija gotovo svih kemijskih sastojaka mlijeka opada, osim serum albumina, imunoglobulina te natrija i klorida zbog čega takve mlijeko ima slankast okus.

2.6. Određivanje somatskih stanica

Određivanjem broja somatskih stanica dobiva se uvid u zdravlje mliječne žlijezde ovaca. Pomoću uređaja za brojanje somatskih stanica, kao što je Fossomatic 5000basic, moguće je, uz visoku preciznost, utvrditi broj somatskih stanica pojedinačnog i skupnog mlijeka.

Mastitis test je rutinski postupak, orijentacijski test, štalska metoda utvrđivanja subkliničkih infekcija vimena. Provodi se na svježem mlijeku individualnih životinja. Iz razloga što ovce fiziološki imaju viši broj somatskih stanica, pozitivna reakcija mastitis testa ne mora značiti da je vime pod upalom, tako da mastitis test nije potpuno pouzdana metoda utvrđivanja upale. Testiranje muznih ovaca u staji pomoću mastitis reagensa je vrlo jednostavno i brzo (www.veinst.hr). Nije potrebna prethodna dezinfekcija sisa, a slučajna prisutnost prašine nema

utjecaja na ishod reakcije. U RH se koriste kalifornijskim mastitis test (CMT, Schalmov test) i zagrebački mastitis test. Njima se utvrđuje povećan broj leukocita koji su indikator upale i poremećene sekrecije vimena. Nakon izmuzivanja mlazeva mlijeka u plitice, one se nagnju u gotovo okomit položaj kako bi višak mlijeka iscurio iz njih te u pliticama ostala jednaka količina mlijeka koja iznosi oko 2 mL. Zatim se, u plitice, ististivanjem iz plastične boce, dodaje jednaka količina (2 mL) reagensa te se kružnim pokretima miješa i izaziva reakcija. Nakon završenog testiranja pojedine krave, sadržaj se odstrani u posebnu posudu, a testator s pliticama se ispere u čistoj vodi i nastavi dalje s pregledom preostalih ovaca.

Kod testiranja mastitis testom koji sadrži mješavinu kemijskog organskog spoja alkilarilsulfonata i indikatora pH vrijednosti mlijeka bromkresolpurpura, miješanjem s mlijekom dolazi do porasta površinske napetosti te pucanjaj membrane i jezgre leukocita. Dolazi do izlaska DNA koja polimerizira pri čemu nastaje gel nalik bjelanjku jajeta (Kalit, 2013., www.veinst.hr).

Fotografija 3. prikazuje pozitivan test. Mlijeko potječe od životinje sa zaraženim vimenom koje sadrži 2,7 milijuna somatskih stanica (Dolenčić Špehar I., 2012.)



Fotografija 3. Pozitivan mastits test, 2,7 milijuna somatskih stanica (Dolenčić Špehar I., 2012., interni nastavni materijal)

2.7. Pravilnik o kakvoći svježeg sirovog mlijeka (NN 102/00)

Prema Članku 6. Pravilnika o kakvoći svježeg sirovog mlijeka (NN 102/00), ovčje mlijeko mora udovoljavati sljedećim zahtjevima kakvoće:

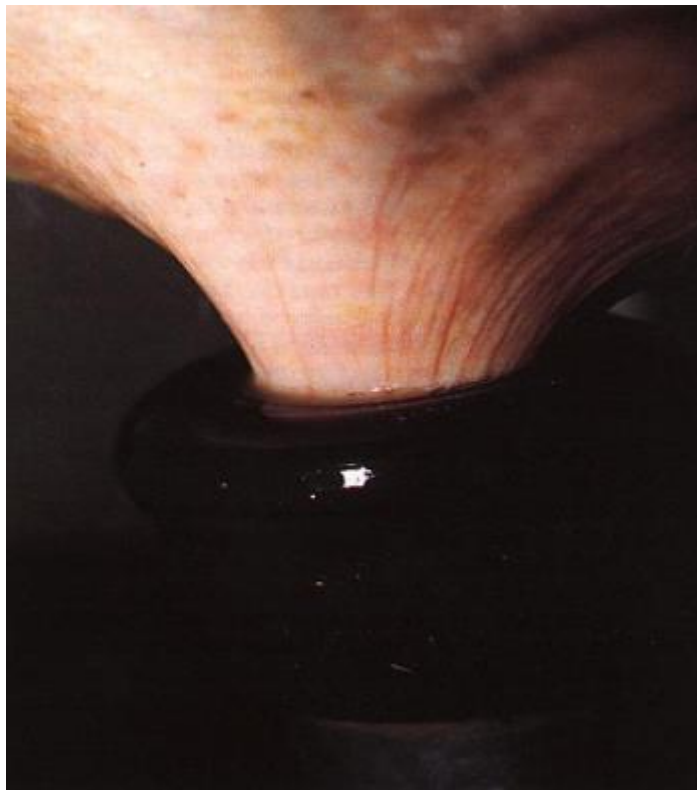
- da sadrži najmanje 4,0 % mliječne masti;
- da sadrži najmanje 3,8 % bjelančevina;
- da sadrži najmanje 9,5 % suhe tvari bez masti;
- da mu je gustoća od 1,034 do 1,042 g/cm na temperaturi od 200 C;
- da mu je kiselinski stupanj 8,0 do 12,00 SH, a pH vrijednost od 6,5 do 6,8;
- da mu točka ledišta nije viša od -0,560 C.

2.8. Higijena ručne i strojne mužnje

Proizvodnja ovčjeg mlijeka, osim pravilnog smještaja i hranidbe, zahtijeva i osiguravanje pravilne mužnje. Uvođenje strojne mužnje ovaca je preduvjet poboljšanja mikrobiološke kvalitete mlijeka, ali pretpostavlja ulaganja za nabavku strojeva, odnosno izmuzišta, obuku muzača i rigorozno održavanje čistoće stroja za mužnju te organizaciju savjetodavne službe (Crnojević, 1992.).

Kako bi smanjili rizik od mastitisa potrebno je udovoljiti uzdržnim i proizvodnjim potrebama ovaca u laktaciji i u suhostaju, održavati higijenu smještaja. Pranje i dezinfekcija objekata i opreme su od ključne važnosti u borbi protiv mastitisa. Potrebno je provoditi mastitis test kako bi mogli reagirati liječenjem u što ranijim stadijima upala. Pri mužnji, polazište dobre mikrobiološke kvalitete svježeg sirovog mlijeka je higijena muzača. Obavezno je pranje ruku i poželjno je nošenje jednokratnih rukavica. Oprema za mužnju treba biti oprana i dezinficirana kako bi sadržavala što manje mikroorganizama. Prije postavljanja sisnih čaški potrebno je izmasirati i pregledati vime, izmusti prve mlazove, koji sadrže značajno više mikroorganizama koji se nalaze u sisnom kanalu, pregledati mlijeko na crnoj podlozi kako bi vidjeli ima li mlijeko pahuljice, krpice, crvenkastu boju ili je vodenasto. Osim toga, izmuzivanjem prvih mlazeva smanjuje se i broj živih bakterija u mlijeku budući da prvi mlazevi sadrže navise bakterija. Sise moraju biti dezinficirane nekim od preparata kao što je aktivna pjena i osušene jednokratnim

suhim maramicama ili krpama koje se kasnije peru na visokim temperaturama. Istu krpu korištenu na jednoj ovci nikako ne bi trebali koristiti na drugoj jer se i tim načinom može prenijeti uzročnik mastitisa. Kod obavljanja ručne mužnje, navodi Majić (1986.), sisu valja položiti na dlan te stisnuti palcem i kažiprstom kako bi spriječili potiskivanje mlijeka iz sisne cisterne u vimenu cisternu. Preostalim prstima stisnuti od gore prema dolje tj. ventralno, prema vršku sisnog kanala i na taj način istisnuti mlijeko. Nakon toga se popušta pritisak prstiju, napola otvori dlan da bi se sisna cisterna napunila mlijekom iz vimene cisterne. Sise, da bi ostale zdrave, potrebno je stiskati ravnomjerno i ne prejako. Kod strojne mužnje, ako je vime oprano, voda od pranja vimena nikako se ne bi smjela cijediti niz vime, prema sisnim čaškama, jer sa sobom nosi patogene i koliformne bakterije koje ulaze u čaške i dalje sistemom u hladionik za mlijeko. Pojava prilikom mužnje kada se uzastopno i naizmjenično pojavljuje i nestaje voda, a vidi se na dodirnim krugu vrha sisne čaške i sise, naziva se „magična voda“. Kako pulzacija radi, voda ulazi u čaške, nova se slijeva sa vimena u čaške. Pojavu slijevanja vode niz vime prema sisnim čaškama („magične vode“) prikazuje fotografija 4.



Fotografija 4. Nedovoljno suho vime (Kalit S.,2009.)

Krnjak i sur. (2005.) ukazuju da dezinfekciju sisa prije mužnje umanjuje rizik od zaraza za 70%. Isti autori navode kako oprema za mužnju treba biti adekvatne veličine, ispravno funkcionirati i redovito biti čišćena i održavana. Potrebno je osigurati stabilan vakuum i nikako ne skidati sisni sklop prije nego je vakuum isključen.

Održavanje stroja za mužnju, nivo vakuuma i pulzacija je od velike važnosti za zdravlje ovaca i higijensku ispravnost ovčjeg mlijeka. Potrebno je provjeravati stanje sisnih guma, mljekovoda, vakuumovoda, razinu ulja i napetost remenja (Kalit S. 2009.). Isti autor navodi parametre mužnje koji iznose: broj pulzacija za mužnju ovaca 120 – 180 / min (goveda 50 – 60 / min; koze 90 – 120). Visina vakuuma za ovce iznosi 36 – 44 kPa (goveda 42 kPa; koze 32 – 40 k Pa). Fotografija 5. A prikazuje štetnost previsokog vakuuma. Fotografija 5. B prikazuje neodržavani muzni uređaj. Fotografija 5. C prikazuje puknuti gumeni dio sisnog sklopa.



Fotografija 5. A

Fotografija 5. B

Fotografija 5. C

Fotografija 5. A: Rezultat previsokog vakuuma (Kalit S. 2009.)

Fotografija 5. B: Neodržavani muzni uređaj (Kalit S. 2009.)

Fotografija 5. C: Puknuti gumeni dio sisnog sklopa (Kalit S. 2009.)

Za vrijeme mužnje potrebno je osigurati mir, što manje nugalnih zvukova i naglih pokreta jer se u protivnom potakne lučenje hormona epinefrina koji je antagonist hormonu oksitocinu. Stražnji režanj hipofize, žlijezde sa unutrašnjim izlučivanjem, podražen masažom vimena i pritiskom na sise pranjem i brisanjem, luči oksitocin. Ovaj neuroendokrini refleks potiče kontrakciju glatkog mišićnog tkiva (mioepitelnih stanica). Jedino je na taj način omogućeno

potpuno pražnjenje mlijeka iz vimena. Za pražnjenje (istiskivanje) mlijeka iz alveola neophodan je oksitocin. Ako je ovca u stanju stresa, oksitocin će biti nadjačan djelovanjem epinefrina te se alveolarno mlijeko neće istisnuti iz alveole prema cisterni i sisnom kanalu, dakle izmest će se samo cisternalno mlijeko. Kod goveda približan omjer cisternalnog i alveolarnog mlijeka iznosi 20 : 80 %. Kod ovaca je to nešto drukčije. Veći dio mlijeka je se nalazi u cisterni, u pravilu od 50 do 80%. Prpić (2010.) navodi da omjer cisternalnog i alveolarnog mlijeka kod pasmine lacune iznosi 73 : 27 % i kod pasmine manchega 56 : 44 %.

2.9. Strojna mužnja i muzni uređaj

Svrha stojne mužnje je dobivanje higijenski kvalitetnijeg mlijeka te olakšavanje posla mužača, nikako zamjena mužača. Za uspješno obavljanje strojne mužnje potrebna je ispravna muzilica, dobro rukovanje i održavanje stroja (Majić, 1986.). Isti autor navodi kako ne smije biti polovičnih rješenja niti u pogledu materijala, ni u upotrebi muzilice. Ukoliko se nešto od toga zanemari, odmah se uočavaju posljedice: pogoršava se zdravlje vimena i smanjuje se higijenska kvaliteta mlijeka. Prije pristupanja strojnoj mužnji, moraju se ispoštovati sljedeći zahtjevi: muzilicom se muzu samo ovce čije je vime zdravo, bolesne se muzu zadnje, mužnja se mora obavljati uz upotrebu čistog pribora i čistim rukama.

Muzilica ili stroj za mužnju sastoji se od (Majić, 1986.): podtlačne crpke, vakuumovoda, sigurnosnog ventila, kondenzatnog ventila, vakuummetera, pulzatora i muzilice.

Prije svake strojne mužnje potrebno je provjeriti radi li muzilica ispravno, a to znači provjeriti: podtlačnu crpku, sigurnosni ventil, vakuummeter i pulzator.

Stavljanje i skidanje sisnih čaški zahtijeva određenu uvježbanost mužača, u protivnom se nečistoće vrlo lako usišu. Pri postavljanju sisnih čaški, ventil na kolektoru treba otvoriti, a kratku priključnu gumenu cijev lagano povinuti među prstima kako bi spriječili neželjeni ulazak zraka u muzilicu. Pri skidanju sisnih čaški najprije treba provjeriti je li vime (obje polovice) potpuno prazno, zatvoriti kolektor i pričekati da čaške skliznu na podmetnutu ruku.

Čim mužač opazi da mlazevi mlijeka postaju tanji, tj. da je mužnja pri kraju, treba kratkotrajnom i pažljivom mužnjom masažom pokušati izmesti zadnje mlijeko i odmah skinuti

čашke s vimena da se izbjegne mužnja praznog vimena. Posljednje mlazeve mlijeka treba izmusti ručno jer je rizik izmuzivati ih muzilicom za zdravlje vimena (Majić, 1986.).

2.9.1. Pranje i čišćenje opreme za mužnju

Jedan od osnovnih uvjeta za postizanje higijenski ispravnog mlijeka je temeljito pranje i čišćenje muzilice i pribora za mužnju. Muzilica za mužnju ovaca se sastoji od dvije sisne čaške, priključnih gumenih cijevi i kolektora. Odmah nakon skidanja sisne čaške s posljedne pomuzene ovce potrebno ju je temeljito isprati čistom, pitkom mlakom vodom. Nikada se ne upotrebljava prehladna ili prevruća voda. Sisne čaške s nasišnjacima i priključnim cijevima najjednostavnije je isprati tako da se kroz sisne čaške usiše voda iz priručne kante pomoću podtlaka. Ovaj postupak se ponavlja više puta. Sisne čaške se mogu također isprati vodom tako da se izravno priključe na vodovod. Nakon ispiranja sisnih čaški vodom, pulzator se skine i spremi na adekvatno mjesto. Vanjska površina muzilice čisti se i pere mlazom vode i četkom.

Za djelotvorno čišćenje mljekarskog pribora koriste se dopuštena kemijska sredstva. Tekućina za čišćenje se priprema u priručnu kantu. Voda za pranje bi trebala biti zagrijana na 80 do 90 °C. Takvom vodom se peru rastavljeni dijelovi muzilice, pričekava se kako bi se dijelovi natopili i ohladili te se nadalje pere vodom zagrijanom na 40 do 50 °C. Muzilicu je potrebno prati lužnatim sredstvom koji odstranjuje organske tvari (mliječnu mast, mliječni šećer, mliječni protein) i kiselim sredstvom koji otklanja mliječni i vodeni kamenac.

Gumeni nasišnjaci i priključne gumene cijevi ne smiju biti izložene sunčanim zrakama. Trajnost gumenih nasišnjaka je ograničena pa ih zbog toga treba redovito mijenjati. Potrebno je pogledati koliki je rok trajanja preporučen od proizvođača. S dotrajalošću nastaju mikropore u gumenom materijalu u kojemu zaostaju male količine mlijeka, ali dovoljne količine za razvoj velikog broja mikroorganizama koji su stalni izvor kontaminacije mlijeka tijekom mužnje.

3. MATERIJAL I METODE

3.1. Pokusne životinje

Istraživanje je provedeno u tri stada u kojima se uzgajaju paške ovce. Sva stada su pod kontrolom mliječnosti Hrvatske poljoprivredne agencije. Hranidba se temelji na paši uz dohranu sijenom. Ovce se nalaze na pašnjacima ograđenim suhizidom tijekom cijele godine, uz nekoliko pregona. Suhozidi se redovito održavaju te se ovce, pri vremenskim neprilikama mogu sakriti pod nastrešnice koje su zatvorene sa sjeverne strane. Uzgajivači nastoje ovce preko zime, kada se hranidba temelji na sijenu i krepkim krmivima, držati na onim pašnjacima gdje postoji nekakav oblik skoništa od vremenskih nepogoda i gdje im se može staviti voluminozna i krepka krmiva. Ovce koje se muzu ručno koncentrat dobivaju nakon konzumacije sijena.

3.2. Mužnja

Na dvije farme mužnja je ručna u kantu u jednostavnim stajama u kojima se ovce grupiraju i nakon mužnje puštaju na otvorene površine. Ručna mužnja se obavlja na pašnjacima u ograđenom prostoru koji uzgajivači nazivaju *tor* ili *osik*. Vime ovaca se ne priprema za mužnju, ne primjenjuje se dezinfekcija ili brisanje sisa prije, niti poslije mužnje. Ovce se muzu dva puta dnevno, a izmuzivanje prvih mlazova se također ne provodi. Ovce se utjeruju u uzak prostor, dolazi mužač, muze se u ručno u kantu te mužnja traje 2 do 2,5 minute. Nakon što je pomuzena, mužač ovcu pušta sebi iza leđa nakon čega ovce dobivaju krepka krmiva.

U trećoj staji koristi se strojna mužnja u izmuzištu pomoću mljekovoda. Izmuzište je kapaciteta dva puta po deset ovaca. Kod strojno muženih ovaca, vime se prije mužnje također ne dezinficira i ne pere nego se ovcama odmah stavlja muzna jedinica, bez izmuzivanja prvih mlazova. Mužnja traje 2 do 2,5 minute te prilikom toga ovce konzumiraju krepka krmiva. Nakon mužnje, ovce se puštaju na pašnjak do slijedeće mužnje. Mlijeko se mljedovodom odvodi u hladionik za mlijeko (laktofriz) gdje se hladi na +4 °C. Nakon završene mužnje, uključuje se automatsko pranje sustava za mužnju.

3.3. Uzimanje uzoraka za bakteriološku pretragu

Iz svakog stada uzeto je 50 uzoraka mlijeka za bakteriološku pretragu u sterilnu epruvetu. Prvi mlazevi su izmuzeni u posudu s crnim dnom. Prilikom uzimanja uzorka mlijeka za bakteriološku pretragu epruveta je položena blago vodoravno kako bi se spriječila kontaminacija prašinom iz zraka i prljavštinom sa vimena. Zatim je označena rednim brojem koji odgovara broju ušne markice pokusne ovce.

3.4. Uzimanje uzoraka za određivanje broja somatskih stanica

Uzorci mlijeka za određivanje broja somatskih stanica izmuzeni su u plastične posude u količini od 50 mililitara. Svaki uzorak je označen rednim brojem koji odgovara broju ušne marke ovce u pokusu.

3.5. Statistička obrada podataka

Statistička obrada podataka provedena je korištenjem statističkog programa SAS V8 (SAS STAT, 1999.)

3.6. Mikrobiološka pretraga

Mikrobiološku pretragu provedena je u skladu s opće prihvaćenim preporukama opisanim u *Laboratory handbook on bovine mastitis* (National mastitis council, 1999.).

Iz uzorka svake pojedinačne polovice vimena nacijepljena je količina od 0,01 mL na polovicu površine Petrijeve zdjelice s hranjivom podlogom eskulin-krvni agar. Pritom je korištena mikrobiološku ušicu promjera 10 mm za jednokratnu uporabu.

Nacijepljene hranjive podloge su inkubirane u termostatu pri + 37 °C tijekom 24 sata nakon čega je pristupljeno kontroli porasta kolonija na površini hranjive podloge. Ostatak uzorka čuvan je u hladnjaku pri temperaturi od 4°C do kraja pretrage. Uzorke koji su mastitis testom reagirali pozitivno, a u kojima nije bilo porasta mikrobne kulture nakon 24-satne

inkubacije, ponovno su nacijepljene na polovicu površine Petrijeve zdjelice u količini od 0,1 mL, a kontrolu porasta obavljena je u istim vremenskim razmacima.

Nakon inkubiranja nacijepljene hranjive podloge pristupljeno je determinaciji poraslih bakterijskih kolonija. Pri tome su uzete u obzir morfološke (oblik, veličinu i strukturu kolonija) i fiziološke osobine (stvaranja pigmenta, izazivanje CAMP fenomena, razgradnja eskulina, sposobnost zgrušavanja kuničje plazme, bojanje po Grammu).

3.7. Determinacija važnijih skupina uzročnika mastitisa

3.7.1. Determinacija streptokoka

3.7.1.1. CAMP test

Bakterijske kolonije koje su porasle na krvnom agaru s eskulinom, a morfološkim osobinama su odgovarale streptokokima podvrgnute su CAMP testu na slijedeći način. Na površinu hranjive podloge eskulin krvni agar nacijepljene su u obliku pruge cijelim promjerom Petrijeve ploče beta-hemolitični soj bakterije *Staphylococcus aureus*. Izdvojeni sojevi streptokoka nacijepljeni su okomito na ovu prugu na udaljenosti 6-12 mm. Petrijeve ploče s nacijepljenim bakterijama inkubirane su pri + 37 °C tijekom 24 sata nakon čega je pristupljeno prosudbi porasta bakterija i determinaciji streptokoka prema navedenoj shemi.

Tablica 5. Prosudba CAMP testa

Boja kolonija na EK podlozi	Hemoliza	Boja kolonija na CAMP podlozi	Polumjesečasta hemoliza	Bakterija
Plavičasta	+ ili -	Plavičasta	+	<i>Streptococcus agalactiae</i>
Plavičasta	+ ili -	Plavičasta	-	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>
Zelenkaste ili smeđe		Zelenkasta ili smeđa	+	<i>Streptococcus uberis</i>
Zelenkaste ili smeđe		Zelenkasta ili smeđa	-	Skupina D po Lancefieldovoj

3.7.2. Determinacija stafilokoka

Kolonije porasle na krvnom agaru s eskulinom koje su morfološkim osobinama odgovarale stafilokokima precijepljene su na Baird Parker agar. Nakon inkubacije u trajanju od 24 sata pri + 37 °C provjerene su morfološke (sposobnost rasta te veličinu i oblik kolonija) i fiziološke osobine rasta stafilokoka (boju kolonija, prozirnost podloge oko poraslih kolonija) te sposobnost tvorbe koagulaze. U tu svrhu korištena je kuničja plazma. Test je načinjen tako što je u 0,5 mL sterilne kuničje plazme suspendirana puna mikrobiološka ušica kolonija poraslih na Baird Parker agaru. Pojavu zgrušavanja ove suspenzije provjerena je nakon 4 i 24 sata inkubiranja pri + 37 °C. Izdvojene sojeve koji su stvarali žućkasti pigment te izazvali zgrušavanje kuničje plazme proglašene su vrstom *Staphylococcus aureus*. Sojevi koji nisu tvorili koagulazu svrstani su u skupinu koagulaza-negativnih stafilokoka (*Staphylococcus spp.*).

3.7.3. Determinacija gram-negativnih uzročnika

Bakterijske kolonije koje su prema morfološkim osobinama odgovarale gram-negativnim uzročnicima mastitisa precijepljene su na podlogu s trostrukim šećerom (*Triple Sugar Iron* -

TSI) te na McConkey agar. Nakon naciepljivanja i inkubiranja na 37 °C u trajanju od 24 sata pristupljeno je prosudbi porasta.

Na TSI agaru ocjenjen je boja dna, boja kosine i prisutnost plina, a na McConkey agaru sposobnost rasta, boja i izgled kolonija.

3.7.4. Poluautomatizirani sustav identifikacije Micronaut

Svi izdvojeni uzročnici su identificirani i pomoću sustava Micronaut. Ovaj identifikacijski sustav temelji se na spektrofotometrijskom mjerenju sposobnosti izdvojene bakterijske kulture da mijenja pojedine supstrate. Suspenzija izdvojene bakterije uzgojene u čistoj kulturi naciepljena je u jažice mikrotitracijske plitice s dodanim supstratima. Nakon inkubacije naciepljenih mikrotitracijskih ploča, rezultat se očitao pomoću spektrofotometrijskog čitača. Očitane rezultate računalni program je obradio i formirao kao završno izvješće identifikacije. Inačica seta supstrata za gram-pozitivne uzročnike dolazi pod nazivom Micronaut RPO, dok se za identifikaciju gram-negativnih bakterija koristi inačica Micronaut E.

3.7.4.1. Micronaut RPO

Mikrotitracijske ploče koje služe za automatsku identifikaciju gram-pozitivnih bakterija. MICRONAUT-RPO je sustav identifikacije gram-pozitivnih vrsta bakterija pomoću standardnih biokemijskih reakcija. Provjeravaju se 44 biokemijske reakcije (peptidaze, glikozidaze/esteraze, dekarboksilaze i fermentacijske osobine).

3.7.4.2. Micronaut-GNE

Mikrotitracijske ploče koje služe za automatsku identifikaciju gram-negativnih bakterija. MICRONAUT-GNE je sustav identifikacije enterobakterija i drugih gram-negativnih vrsta bakterija pomoću standardnih biokemijskih reakcija. Provjerava se 21 biokemijska reakcija (kromogeni supstrati, dekarboksilaze, klasične reakcije i fermentacijske osobine).

Osnovne morfološke i fiziološke karakteristike pojedinih uzročnika

a) Stafilokoki

Vrsta *S. aureus* na krvnom agaru stvara kremaste, sivkasto-bijele ili zlatno-žute kolonije (3-5 mm u promjeru) s tipičnom zonom hemolize. Hemolizu karakterizira široka uočljiva zona nepotpune hemolize, a često je udružena sa užom zonom potpune hemolize koja se širi oko 2 mm oko ruba kolonije. Neki sojevi *S. aureus* stvaraju usku, dobro definiranu zonu potpune hemolize dok neki mogu biti nehemolitični. Sojevi sa zonom nepotpune hemolize smatraju se tipičnim za sojeve izdvojene iz goveda. Zona hemolize ograničena je izrazitim oštrim vanjskim rubom (ne difundira).

Gram-pozitivni koki u parovima ili nepravilnim nakupinama, katalaza pozitivni, koagulaza pozitivni.

Druge vrste stafilokoka također povremeno inficiraju mliječnu žlijezdu. Njihove kolonije su pigmentirane ili nepigmentirane (bijele), neke stvaraju usku zonu hemolize (2 mm ili manje) ili širu zonu nepotpune hemolize.

b) Streptokoki

Na krvnom agaru s eskulinom, streptokoki i enterokoki stvaraju sitne (1-3 mm u promjeru) glatke, providne (nepotpuno prozirne) kolonije konveksnog oblika. Zona oko kolonije može biti nehemolitična, okružena zelenkastom zonom zbog promijenjene boje eritrocita (α -hemoliza) ili potpuno hemolitična uslijed potpune lize eritrocita (β -hemoliza). Korištenje krvnog agara s eskulinom dopušta razlikovanje eskulin-negativne vrste *S. agalactiae* od streptokoka koji hidroliziraju eskulin.

Vrsta *Streptococcus agalactiae* na krvnom agaru stvara sitne kolonije promjera 1-2 mm. Kolonije su vlažne, konveksne i providne. Većinom su beta-hemolitične iako ima i nehemolitičnih kao i alfa-hemolitičnih. Gram-pozitivni su, a u obojenim mikroskopskim preparatima vide se u nizovima, ne tvore katalazu i ne razgrađuju eskulin, ali stvaraju CAMP fenomen.

Uzročnik *Streptococcus dysgalactiae* na krvnom agaru stvara sitne kolonije promjera 1-2 mm. Kolonije su vlažne, konveksne i providne. Većinom su beta-hemolitične iako ima i

nehemolitičnih kao i alfa-hemolitičnih. Ne tvore katalazu, ne cijepaju eskulin i ne očituju CAMP fenomen. U obojenim mikroskopskim preparatima vidljivi su u nizovima.

Vrsta *Streptococcus uberis* na krvnom agaru stvara sitne kolonije promjera 1-3 mm. Kolonije su vlažne, konveksne, s gušćim centrom, providne. Većinom su alfa-hemolitične na krvnom agaru mada mogu biti nehemolitične. Poput ostalih streptokoka, boje se pozitivno po gramu, cijepaju eskulin. Uglavnom ne tvore CAMP fenomen, a u mikroskopskim preparatima vidljivi su u nizovima.

Pripadnici roda *Enterococcus* srodni su streptokokima i doskora su pripadali istoj taksonomskoj skupini. Stvaraju sitne kolonije promjera 1-3 mm, vlažne, konveksne, poluprovodne, nehemolitične ili alfa-hemolitične. Cijepaju eskulin, ne očituju CAMP fenomen, u preparatima su vidljivi u nizovima. Za razliku od streptokoka rastu na podlozi s eskulinom i žučnim solima.

Uzročnik mastitisa *Trueperella (Arcanobacterium) pyogenes* karakterističan je po tome što se nakon 24-satne inkubacije pojedinačne kolonije uzročnika još ne uočavaju, ali je na mjestu buduće kolonije uočljiva beta-hemoliza. Nakon 48 sati inkubacije pojavljuju se kolonije, koje su sitnije u usporedbi s kolonijama ostalih uzročnika.

Uzročnik *Corynebacterium bovis* ima sličnu dinamiku porasta i morfologiju kao i *Trueperella*. Kolonije su sitne, prašinate, pojavljuju se nakon 48 sati inkubacije, ali nema hemolize.

3.7.5. Gram-negativni uzročnici

Uzročnik *E. coli* stvara kolonije promjera 3-5 mm, sive, vlažne, tipičnog mirisa. Manje od 15% izolata stvara hemolizu. Po gramu se boji negativno, pojedinačne stanice su štapičastog oblika, fermentira laktozu, na MacConkey agaru stvara ružičaste do crvene, suhe, plosnate kolonije, promjera 2-4 mm, okružene zonom precipitiranih žučnih soli. Reakcija s 3%-tnom otopinom KOH je pozitivna. Na kosom agaru s trostrukim šećerom (TSI agar) dno i kosina nacijepijene i inkubirane podloge su žuto obojeni, a vidljivi su mjehurići plina.

Vrsta *Klebsiella* spp. pripada skupini gram-negativnih bakterija. Stvara kolonije promjera 3-5 mm. Kolonije su sive, vlažne, često sluzave i ne stvaraju hemolizu.

U većini osobina slična je vrsti *E. coli*, ali su kolonije sluzave.

Pripadnici roda *Enterobacter* morfološki i tinktorijelno su slični ostalim enterobakterijama. Kolonije su promjera 3-5 mm, sive, vlažne, često karakteristična fekalnog mirisa, nisu hemolitične i fermentiraju laktozu. Na TSI agaru dno i kosina su žuti, stvara plin. Zbog burnog metabolizma kosina agara može ponovno poprimiti crvenu boju.

Vrste iz roda *Proteus* stvaraju sive kolonije putridnog mirisa bez znakova hemolize. Neke vrste prerastaju čitavu površinu hranjive podloge. Na naciyepljenom TSI agaru kosina je crvena, dno žuto, a uslijed tvorbe vodikova sulfida u dnu je vidljivo crno obojenje.

Pripadnici roda *Pseudomonas* su gram-negativni štapići. Ne fermentiraju laktozu. Kolonije su promjera 2-4 mm, bijele do sive, nepravilnih rubova. Hemolitične su i stvaraju karakterističan cvjetni miris. TSI agar naciyepljen ovim bakterijama ne mijenja boju (ostaje crven) i nema tvorbe plina.

Pripadnici roda *Pasteurella* su gram-negativni kratki ovoidni štapići, često s kapsulom i bipolarno obojeni.

Kolonije su promjera 2-4 mm, sive, izrazito mukoidne i konfluentne. Kolonije mogu biti nepravilne i hrapave. Često su hemolitične i stvaraju ustajali miris.

Osim vrste *Manheimia haemolytica* ne rastu na MacConkey agaru.

Kvasci i plijesni

Kvasci stvaraju različite kolonije na krvnom agaru, ovisno o vrsti. Kolonije su od bijele do kremaste, mogu biti mukoidne do izgleda voska, glatke ili naborane. Plijesni stvaraju pahuljaste, granularne ili pamučaste kolonije, različito obojene. Rastu na Saburaoud agaru koji inhibira rast većine bakterija. U obojenom preparatu vidljive su kao hife (plijesni) ili stanice kvasaca (okrugle do ovalne pupajuće tvorbe).

Trueperella (Arcanobacterium) pyogenes

Nakon 24 sata inkubacije jedva je primjetan rast na podlozi. Slaba hemoliza može se uočiti na mjestu obilnog porasta kolonija. Nakon 48 sati uočavaju se sitne, glatke bjelkaste kolonije okružene uskom zonom hemolize (0,5 - 1 mm). Katalaza negativan, Gram-pozitivni, oblika toljage, kratki pleomorfni štapići ili kokobacili u nakupinama.

Corynebacterium bovis

Na krvnom agaru raste u obliku sivih ili bijelih kolonija. Kolonije su suhe, poput praha i sitne, oko 1 mm u promjeru, nehemolitične. Skoro neprimjetne nakon 24 sata inkubiranja, a uočljivije nakon 48 sati. Kolonije su koncentrirane na mjestu na kojem je načinjen prvi potez ušicom, odnosno gdje je koncentrirana mliječna mast. Katalaza pozitivna bakterija Gram-pozitivni, kratki pleomorfni štapići često u obliku palisada.

3.8. Određivanje broja somatskih stanica

Uzorci u kojima je određivan broj somatskih stanica zagrijan je u vodenoj kupelji na temperaturu 37 °C, a broj somatskih stanica određen je pomoću uređaja Fossomatic 5000basic (FossElectric, Danska) koji služi za brojenje somatskih stanica u svježim ili konzerviranim uzorcima kravljeg mlijeka. Načelo rada uređaja je bojenje jezgara stanica bojom etidij bromid koja ima afinitet za DNA. Nakon miješanja uzorka s bojom, uzorak prolazi kroz pipetu malog promjera. Pri izlasku iz pipete obojene jezgre izložene zraci infracrvene svjetlosti fluoresciraju. Svjetlosni impulsi bilježe se u uređaju, a rezultat se očitava na ekranu i ispisuje na pisaču.

4. Rezultati i rasprava

Istraživanje je provedeno u tri stada ovaca od kojih se u dva koristi ručna mužnja, a u jednom strojna mužnja u izmuzištu. U svim uzorcima mlijeka određen je broj somatskih stanica i provedena je bakteriološka pretraga. Ovce koje se ručno muzu dotjeruju se sa pašnjaka ograđenim suhozidom u uzak prostor tako da se ovca koja je ušla zadnja, prva muze. Muze se u kantu te nakon gotove mužnje se ovca pušta iza muzača.

Kod strojne mužnje, ovce dolaze sa pašnjaka pred izmuzište te po 20 ovaca ulazi u izmuzište (2 x 10 izmuzište). Tijekom mužnje ovce konzumiraju koncentratna krmiva koja dobivaju dva puta dnevno tijekom mužnje. Nakon mužnje se sise ne dezinficiraju, ovce odlaze na pašnjak te ulazi drugih 20 ovaca.

Somatske stanice

Za razliku od broja somatskih stanica (BSS) u mlijeku krava, kod ovaca njihov broj ne mora biti indikator upale mliječne žlijezde. Njihov broj je varijabilan neovisno o zdravlju mliječne žlijezde. U tablici 6. prikazan je prosječan broj somatskih stanica u pokusnim stadima. Uzorci mlijeka uzeti su iz svake polovice mliječne žlijezde. Stada u kojima su ovce ručno mužene označena su brojevima 1 i 2, dok je stado u kojem se koristi strojna mužnja, označeno brojem 3.

Tablica 6. Broj somatskih stanica ($\times 10^3$)

Stado	n	x	min.	max.	SD	CV
1	50	173	121	1310	257	38,43
2	50	157	97	1200	310	47,04
3	50	181	112	1490	437	64,83

Iz tablice 6. vidljivo je da nije bilo statistički značajne razlike u BSS između stada koja se ručno i strojno muzu.

Tablica 7. Broj somatskih stanica u zdravim i inficiranim polovicama mliječne žlijezde

	BSS x 10 ³ zdrava polovica	BSS x 10 ³ inficirana polovica
1	167	1280
2	210	1150
3	370	1350

Iz tablice 7. vidljiv je značajno veći broj somatskih stanica u mlijeku inficiranih polovica u odnosu na mlijeko zdravih.

Tablica 7. Uzročnici subkliničke upale mliječne žlijezde

UZROČNIK	Stado		
	1	2	3
<i>Staphylococcus aureus</i>	+ (4)	+(3)	+ (5)
<i>Streptococcus D</i>	-	+(1)	+(1)
<i>Bacillus spp.</i>	+(1)	-	+(1)
<i>Escherichia coli</i>	+(1)	-	-
UKUPNO	6	4	7

Utvrđivanje broja somatskih stanica u ovčjem mlijeku je najbolji neizravan pokazatelj intramamarne infekcije, odnosno zdravstvenog stanja mliječne žlijezde (McDougall i sur., 2001).

Usporede li se rezultati ovog istraživanja sa istraživanjem Prpić i sur. (2014.), u kojem je sudjelovalo 284 ovce (111 paških ovaca, 93 istarske i 80 istočno-frizijskih), jasno je uočljiva razlika između geometrijskog prosjeka broja somatskih stanica iz inficiranog (1320 x 10³) i zdravog vimena (112 x 10³) što se poklapa sa rezultatima ovog istraživanja.

Gornja granična vrijednost broja somatskih stanica u ovčjem mlijeku do današnjeg dana nije utvrđena (Prpić Z., 2011.). Naime, broj somatskih stanica je pod utjecajem genotipa

(pasmine), stadija laktacije i vrste patogenog mikroorganizma što dovodi do potrebe definiranja graničnih vrijednosti broja somatskih stanica specifičnih za određenu pasminu (Gonzalez-Rodriguez i sur., 1995.). Isto autori sugeriraju gornju graničnu vrijednost broja somatskih stanica kod pasmine Assaf 400 000 /mL, a za Churra 200 000 /mL.

De la Cruz i sur. (1994., cit. Prpić, 2011.) su utvrdili graničnu vrijednost broja somatskih stanica od 250 000 /mL za mlijeko iz zdravog vimena Manchega ovaca, dok Mauren i Schaeren (2007., cit. Prpić 2011.) navode gornju graničnu vrijednost za broj somatskih stanica kod Manchega ovaca 500 000 /mL.

Antunac i sur. (2004.) navode da postotak iznad 700 000 somatskih stanica u mL kod paških ovaca iznosi 9%, kod creskih 7 % i istočno-frizijskih 6%.

U Sjedinjenim Američkim Državama gornja granična vrijednost broja somatskih stanica iznosi 750 000 /mL (PMO, 1995, cit. Antunac i sur., 2004.)

U istraživanju Prpić (2011.) ispitano je 568 uzoraka sekreta mliječne žlijezde paških, istarskih i istočno-frizijskih ovaca. Iz 123 od 568 uzoraka je izoliran jedan od uzročnika mastitisa, što iznosi 21.7 % uzoraka, odnosno polovica vimena ili 34,2 % ovaca (ukupno 97 ovaca). Postotak ovaca iz kojih je izoliran patogeni uzročnik iznosio je 34,2 %. Konkretno, na paškoj ovci je utvrđeno 8,1 % inficiranih polovica vimena ili 14,5 % ovaca.

Rezultat ovog predmetnog istraživanja je pokazao da od 150 uzoraka sekreta mliječne žlijezde paških ovaca, kod njih 17 je utvrđen patogeni uzročnik, što je postotak od 11,34 %. U stadima ručno muženih ovaca pozitivno je bilo: u prvom stadiu 6 od 50 uzoraka, što je 12 %, u drugom stadiu 4 od 50, što je 8 % te u trećem stadiu, strojno muženih ovaca bilo je pozitivnih 7 od 50, što je 14 %. Najčešći izolirani uzročnik upala, u 70% slučajeva, u ovom istraživanju je bio *Staphylococcus aureus*.

5. Zaključak

Iz rezultata ovog istraživanja vidljivo je kako razlika u broju somatskih stanica ručno i strojno muženih ovaca nije statistički značajna. Za očekivati je bilo da uz pomoć suvremene tehnike muznih uređaja, farma sa strojno muženim ovcama, ima manji broj somatskih stanica i manji broj mastitisa. No, broj mastitsa, prosječan broj somatskih stanica, upravo u stadu strojno muženih ovaca, neznatno je viši. Isto tako, najviši prosjek broja somatskih stanica u zdravih i inficiranih polovica vimena utvrđen je u istom stadu.

Rezultati istraživanja ukazuju na lošu higijenu mužnje. Nekorištenje dezinficijensa koji se stavlja na sise prije i poslije mužnje rezultira povišenim brojem somatskih stanica, pojedinačnim i prosječnim, u skupnom mlijeku.

Jedan dio prijenosa uzročnika mastitisa može se spriječiti dezinficiranjem sisnih čaški između mužnju dviju ovaca što isto nije bila praksa kod strojno muženih. Korištenjem gela koji se stavlja poslije mužnje, sprječava se ulazak uzročnika upala u sisni kanal, daljnji prodor prema alveolama te se, na taj način, može spriječiti znatan broj upala.

Sustavnim radom, stalnom edukacijom uzgajivača, kako održavati higijenu opreme, objekata, muzača, vimena, zatim kako se provodi pregled vimena i mastitis test, može se doći do higijenski ispravnog krajnjeg proizvoda. Jednostavnim postupcima kao što su izmuzivanje prvih mlazeva, zatim redovnom kontrolom opreme i zamjenom potrošnih dijelova, prepuštanjem liječenja veterinarima, održavanjem adekvatne hranidbe i slično, sprječava se većina šteta od upala mliječne žlijezde te se dobije bolje zdravlje životinja i broj laktacija, višu i financijski učinkovitiju proizvodnju, bolju kvalitetu i kvantitetu mlijeka koje će pozitivno utjecati na zdravlje ljudi i podići hrvatsko mljekarstvo na viši stupanj.

6. Popis literature

Antunac N., Lukač Havranek J.: Proizvodnja, sastav i osobine ovčjeg mlijeka, *Mljekarstvo* 49 (4) 241-254, 1999.

Antunac N. (2004.): Sastav i osobine ovčjeg mlijeka i njihov značaj u preradi. U: Zbornik predavanj: VI savjetovanje uzgajivača ovaca i koza u Republici Hrvatskoj. Poreč, Hrvatska. Pp. 50-69.

Antunac N., Mikulec N., Bendelja D., Prpić Z., Barać Z.: Karakterizacija i istraživanje kvalitete mlijeka u proizvodnji krčkog sira, *Mljekarstvo* 58 (3) 203-222, 2008.

Antunac N., Samaržija D., Mioč B., Pecina M., Bendelja D., Barać Z.: Utjecaj paragenetskih čimbenika na proizvodnju i kemijski sastav mlijeka paških ovaca, *Mljekarstvo* 61 (3), 226-233, 2011.

Antunac N., Havranek J. (2013.): Mlijeko, kemija, fizika, mikrobiologija, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet

Barać Z., Mioč B., Havranek J., Samaržija D.: Paška ovca, hrvatska izvorna pasmina, Novalja, 2008.

Barać Z., Mioč B., Špehar M.: Utjecaj uzgojnog područja, stadija laktacije i stada na neke odlike mliječnosti paške ovce, *Mljekarstvo* 62 (1), 35-42, 2012.

Caja G., Such X., Ruberte J., Carretero A., Navarro M. (1999.): The use of ultrasonography in the study of mammary gland cisterns during lactation in sheep. *Milking and Milk Production Of Dairy Sheep and Goats*. Barillet, F., Zervas, N.P. (Ed.), Wageningen Pers. Wageningen, The Netherlands, pp. 91-96.

Crnojević Z.: Osnovna pitanja unapređenja proizvodnje ovčjeg mlijeka – temeljnog čimbenika razvoja ovčarstva, *Mljekarstvo* 42 (2) 159-163, 1992.

Dolenčić Špehar I.: Mastitis test, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, interni nastavni materijal, 2012.

Dolenčić Špehar I.: Somatske stanice u mlijeku, Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, interni nastavni materijal, 2005.

Gabrić K. (2016.): Utjecaj kvalitete ovčjeg mlijeka na kvalitetu i randman paškog sira i skute, diplomski rad, Sveučilište u Zagrebu, 2016.

Gonzalez-Rodriguez M. C., Gonzalo C., San-Primitivo F., Carmenes P., Rodriguez M. C. G. (1995.): Relationship between somatic cell count and intramammary infection of the hald udder in dairy ewes. *Journal of Dairy Scienca*. 78: 2753-2759.

Havranek J., Rupiće V. (2003.): Mlijeko od farme do mljekare. Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb

Hrvatska poljoprivredna agencija: Godišnje izvješće, 2016.

Hrvatska poljoprivredna agencija: Godišnje izvješće, 2017.

Kalit S.: Mužnja, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, interni nastavni materijal, 2009.

Kalit S.: Mastitis test, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, interni nastavni materijal, 2013.

Kalit S.: Somatske stanice, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, interni nastavni materijal, 2013.

Kostelić A., Roić B., Mulc D., Bagović P.: Upravljanje zdravlja stada s ciljem povećanje konkurentnosti i očuvanja okoliša u proizvodnji ovčjeg i kozjeg mesa i mlijeka, Hrvatska mljekarska udruga, 2008.

Krnjak I., Tomše-Đuranec V., Pintiće-Pukec N., Stručić D., Blažek D., Mastitis – preventiva, uzroci, liječenje, Hrvatski stočarski centar, 2005.

Kuzmić I., Prpić Z., Vnućec I., Mioč B. (2016.): Uzgojne i tehnološke mogućnosti unaprjeđenja proizvodnje ovčjeg mlijeka, *Stočarstvo*, 70:2016 (2) 61-69.

Ljubičić I. (2008.): Dinamika vegetacije i biljna raznolikost kamenjarskih pašnjaka na otoku Pagu. Magistarski rad, Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Biološki odsjek, Zagreb

Ljubičić I., Britvec M., Mioč B., Prpić Z., Pavić V., Vnućec I.: Florni sastav ovčarskih pašnjaka otoka Paga, *Mljekarstvo* 62 (4) 269-277, 2012.

Majić B. (1986.): Upute o mužnji, Za veću i bolju proizvodnju mlijeka, Zagreb

Marnet P. G., McKusick B.C. (2001.): Regulation of milk ejection and milkability in Small Ruminants. *Livestock Production Science* 70, 125-133.

McDougall S., Murdough P., Pankey W., Delaney C., Barlow J., Scruton D. (2001.): Relationships among somatic cell count, California mastitis test, impedance and bacteriological status of milk and sheep in early lactation. *Small Ruminant Research*. 40 (3): 245-254.

Ministarstvo poljoprivrede i šumarstva: Pravilnik o kakvoći svježeg sirovog mlijeka (NN 102/00), 2000.

Mioč B., Pavić V., Sušić V. (2007.): Ovčarstvo, Hrvatska mljekarsa udruga, Zagreb

Mioč B., Pavić V., Barać Z., Vnućec I., Prpić Z., Mulc D., Špehar M.: Program uzgoja ovaca u Republici Hrvatskoj, Hrvatski savez uzgajivača ovaca i koza, Zagreb, 2011.

Pandek K., Mioč B., Barać Z., Havranek V., Antunac N., Prpić Z.: Mlječnost nekih pasmina ovaca u Hrvatskoj, *Mljekarstvo* 55 (1) 5-15, 2005.

Prpić Z. (2011.): Povezanost pasmine s mliječnošću, morfologijom i zdravljem vimena ovaca, disertacija, Zagreb, 2011.

Prpić Z., Mioč B., Vnućec I., Barać Z., Pavić V.: Broj somatskih stanica u mlijeku kao pokazatelj zdravlja mliječne zlijezde: Hrvatska mljekarska udruga, 41. simpozij mljekarskih stručnjaka s međunarodnim sudjelovanjem, 2014., 89-90

SAS STAT (1999.) OnlineDoc, Software Release 8. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA

Udruga uzgajivača paške ovce: „Paška janjetina“, oznaka izvornosti, Specifikacija proizvoda, Pag, 2014.

Vukašinović Z., Antunac N., Mikulec N., Mioč B., Barać Z. (2008.): Proizvodnja i kvaliteta mlijeka paških ovaca, *Mljekarstvo* 58 (1), 5-20.

Popis korištenih poveznica

FAOSTAT – pristupljeno 26.06.2017.

www.fao.org/faostat/en/

Geografija.hr – pristupljeno 27.07.2017.

Faričić, J. (2004.): Pag-otok na dodiru geografskih mikrosvijetova

<http://www.geografija.hr/clanci/302/pag-otokna-dodiru-geografskih-mikrosvijetova>

Hrvatska poljoprivredna agencija - pristupljeno 24.03.2017.

<http://www.hpa.hr/paska-ovca/>

Hrvatski savez uzgajivača ovaca i koza – pristupljeno 22.06.2017.

www.ovce-koze.hr/

Hrvatski veterinarski institut – pristupljeno 17.05.2017.

www.veinst.hr/download/dokumenti/zagrebacki_mastitis_test.doc

Paška sirana – pristupljeno 26.03.2017.

<http://www.paskasirana.hr/hr/proizvodi/sirevi/paski-sir>

Univerzitet u Novom Sadu – pristupljeno 29.03.2017.

<http://polj.uns.ac.rs/wp-content/plugins/cip4-folder-download-widget/cip4->

[download.php?target=wpcontent/uploads/files/Reprodukcija%20domacih%20zivotinja/Materijal%20sa%20predavanja/](http://polj.uns.ac.rs/wp-content/uploads/files/Reprodukcija%20domacih%20zivotinja/Materijal%20sa%20predavanja/)

[REPRODUKCIJA%20ZA%20STOCARE%20I%20VETERINARE/2.%20ANATOMIJA%20REPROD.pdf&info=wpcontent/uploads/files/Reprodukcija%20domacih%20zivotinja/Materijal%20sa%20predavanja/](http://polj.uns.ac.rs/wp-content/uploads/files/Reprodukcija%20domacih%20zivotinja/Materijal%20sa%20predavanja/REPRODUKCIJA%20ZA%20STOCARE%20I%20VETERINARE/2.%20ANATOMIJA%20REPROD.pdf&info=wpcontent/uploads/files/Reprodukcija%20domacih%20zivotinja/Materijal%20sa%20predavanja/)

[REPRODUKCIJA%20ZA%20STOCARE%20I%20VETERINARE/.cip4-download-info.csv](http://polj.uns.ac.rs/wp-content/uploads/files/Reprodukcija%20domacih%20zivotinja/Materijal%20sa%20predavanja/REPRODUKCIJA%20ZA%20STOCARE%20I%20VETERINARE/.cip4-download-info.csv)

Životopis

Mislav Blažanović, rođen 25.11.1993. u Zagrebu, Hrvatska. Osnovnu školu pohađao je u Hrvatskoj Kostajnici. Srednju školu, opću gimnaziju, je također pohađao u Hrvatskoj Kostajnici, od 2008. do 2012. Od stranih jezika, učio je engleski 9 godina, njemački jezik 4 godine i latinski jezik 2 godine. 2012. je upisao studij Animalne znanosti na Agronomskom fakultetu u Zagrebu. Nakon završetka preddiplomskog studija upisuje diplomski studij Proizvodnja i prerada mlijeka na Agronomskom fakultetu u Zagrebu. Trenutno je zaposlenik u mljekarskoj industriji kao tehnolog razvoja kooperanata.